

Aus der Indikationsgruppe Herz-Kreislauf-Erkrankungen der  
Aventis Pharma Deutschland GmbH

Eingereicht über das Institut für Veterinär-Physiologie der  
Justus-Liebig-Universität Giessen

**Untersuchung zur Langzeitwirkung des  
Natrium-Protonen-Austausch-Hemmers  
Cariporide in der chronischen Herz-  
insuffizienz und bei myokardialer  
Ischämie und Reperfusion  
im Kaninchen**

**INAUGURAL-DISSERTATION**  
zur Erlangung des Doktorgrades  
beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Giessen

eingereicht von

**Marlene Bellen**

Gießen 2004

**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**  
édition scientifique

ISBN 3-89687-668-6

**Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.**

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2004

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1<sup>st</sup> Edition 2004

© 2004 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, WETTENBERG  
Printed in Germany



**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**  
édition scientifique

GLEIBERGER WEG 4, D-35435 WETTENBERG  
Tel: 06406-4413 Fax: 06406-72757  
Email: VVB-IPS@T-ONLINE.DE

[www.doktorverlag.de](http://www.doktorverlag.de)

Aus der Indikationsgruppe Herz-Kreislauf-Erkrankungen der  
Aventis Pharma Deutschland GmbH  
Betreuer: PD Dr. W. Linz

Eingereicht über das Institut für Veterinär-Physiologie der  
Justus-Liebig-Universität Giessen  
Im Fachbereich vertreten durch: Prof. Dr. M. Diener

**Untersuchung zur Langzeitwirkung des Natrium-Protonen-  
Austausch-Hemmers Cariporide in der chronischen  
Herzinsuffizienz und bei myokardialer Ischämie und  
Reperfusion im Kaninchen**

**Inaugural-Dissertation**  
zur Erlangung des Doktorgrades  
beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Giessen

Eingereicht von  
**Marlene Bellen**  
**geb. Laux**  
Tierärztin aus Frankfurt

Giessen 2004

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Giessen

Dekan: Prof. Dr. Dr. h.c. B. Hoffmann

1. Berichterstatter: PD Dr. W. Linz
2. Berichterstatter: Prof. Dr. M. Diener

Tag der mündlichen Prüfung: 06.02.2004

## **Meinen Eltern**



# Inhaltsverzeichnis

## 1. Abkürzungsverzeichnis

## 2. Einleitung

2.1	Allgemein .....	1
2.2	Der Myokardinfarkt .....	3
2.2.1	Definition und Pathogenese des Myokardinfarktes .....	3
2.2.1.1	Ischämische Herzmuskelnekrose .....	5
2.2.2	Symptomatik und Diagnostik des Myokardinfarktes .....	6
2.2.3	Therapie des Myokardinfarktes .....	7
2.2.3.1	Reperfusionsschaden .....	9
2.3	Herzinsuffizienz .....	10
2.3.1	Definition und Klassifikation der Herzinsuffizienz .....	10
2.3.2	Pathogenese und Pathophysiologie der Herzinsuffizienz .....	12
2.3.3	Symptomatik und Diagnostik der Herzinsuffizienz .....	18
2.3.4	Therapie der Herzinsuffizienz .....	19
2.4	Natrium-Protonen-Austauscher .....	21
2.4.1	Natrium-Protonen-Austauscher während Ischämie und Reperfusion .....	22
2.4.2	Natrium-Protonen-Austauscher in der Herzinsuffizienz .....	24
2.4.3	Natrium-Protonen-Austauscher-Inhibitoren .....	27
2.5	Zielsetzung der Arbeit .....	29
2.5.1	Vergleich der Bolusgabe eines NHE1-Inhibitors vor Ischämie/Reperfusion mit zusätzlicher NHE1-Inhibitor-Gabe während langer Reperfusion .....	29
2.5.2	NHE1-Inhibitor im direkten Vergleich zu einem ACE-Hemmer und als Zusatztherapie in der Behandlung der Herzinsuffizienz .....	30

### 3. Material und Methoden

3.1	Tiere und deren Haltungsbedingungen .....	31
3.2	Verwendete Substanzen .....	31
3.2.1	Ramipril .....	31
3.2.2	Cariporide (Hoe 642) .....	32
3.3	Untersuchungen .....	33
3.3.1	Allgemeine Versuchsprotokolle .....	33
3.3.2	Gruppenzusammensetzungen .....	34
3.3.3	Ischämie/Reperfusionsstudie .....	35
3.3.3.1	Ischämie/Reperfusions-OP .....	35
3.3.3.2	Bestimmung des Körpergewichts und Blutprobenentnahmen .....	37
3.3.3.3	Ck-Bestimmung, proANP-Bestimmung .....	37
3.3.3.4	Echokardiografie .....	38
3.3.3.4.1	Allgemeine Methodik .....	38
3.3.3.4.2	Durchführung der Untersuchung + Messparameter .....	39
3.3.3.5	in vivo Hämodynamikmessung .....	40
3.3.3.6	Herzentnahme und Infarktgrößenbestimmung .....	42
3.3.4	Herzinsuffizienzstudie .....	43
3.3.4.1	Experimenteller Myokardinfarkt .....	43
3.3.4.2	Bestimmung des Körpergewichts + Blutprobenentnahme .....	43
3.3.4.3	proANP-Bestimmung, Aldosteron-Bestimmung, CRP-Bestimmung .....	44
3.3.4.4	Echokardiografie .....	44
3.3.4.4.1	Durchführung der Echokardiografie + Messparameter .....	44
3.3.4.5	in vivo Hämodynamikmessung .....	45
3.3.4.6	Herzentnahme, Gewichts- und Infarktgrößen- bestimmungen .....	46
3.4	Statistik .....	46



## 4. Ergebnisse

4.1	Ischämie-Reperfusionsstudie .....	47
4.1.1	Mortalitätsrate .....	47
4.1.2	Ergebnisse der Echokardiografie .....	47
4.1.2.1	Linksventrikuläre morphologische Parameter .....	47
4.1.2.2	Linksventrikuläre systolische Funktion .....	51
4.1.2.3	Linksventrikuläre diastolische Funktion .....	52
4.1.3	Körper-, Herz- und Ventrikelgewichte .....	53
4.1.4	Ergebnisse der Hämodynamik .....	54
4.1.4.1	Linksventrikulärer systolischer Druck .....	54
4.1.4.2	Kontraktilität .....	56
4.1.4.3	Blutdruck und Herzfrequenz .....	58
4.1.5	Infarktgrößen .....	59
4.1.6	Plasmabestimmungen .....	59
4.1.6.1	Ck .....	59
4.1.6.2	proANP .....	60
4.2	Herzinsuffizienzstudie .....	61
4.2.1	Mortalitätsrate .....	61
4.2.2	Ergebnisse der Echokardiografie .....	61
4.2.2.1	Linksventrikuläre morphologische Parameter .....	61
4.2.2.2	Linksventrikuläre systolische Funktion .....	65
4.2.2.3	Linksventrikuläre diastolische Funktion .....	68
4.2.3	Körper-, Herz- und Ventrikelgewichte .....	69
4.2.4	Ergebnisse der Hämodynamik .....	71
4.2.4.1	Linksventrikulärer systolischer Druck .....	71
4.2.4.2	Kontraktilität .....	72
4.2.4.3	LVEDP .....	74
4.2.4.4	Blutdruck und Herzfrequenz .....	74
4.2.4.5	Aortenfluss .....	75
4.2.5	Infarktgrößen .....	76
4.2.6	Plasmabestimmungen .....	76
4.2.6.1	Aldosteron .....	76
4.2.6.2	proANP .....	76

## **5. Diskussion**

5.1	Einfluss von Cariporide auf das infarzierte und reperfundierte Herz .....	78
5.1.1	Einfluss von Cariporide auf die Morphologie und Funktion des infarzierten und reperfundierten Herzens .....	78
5.1.2	Einfluss von Cariporide auf die Plasmaspiegel von Ck und proANP .....	81
5.1.3	Einfluss von Cariporide auf die Infarktgrößen .....	82
5.2	Einfluss von Cariporide, Ramipril und deren Kombination auf das insuffiziente Herz .....	85
5.2.1	Einfluss von Cariporide, Ramipril und deren Kombination auf die Morphologie des insuffizienten Herzens .....	85
5.2.2	Einfluss von Cariporide, Ramipril und deren Kombination auf die Funktion des insuffizienten Herzens .....	87
5.2.3	Einfluss von Cariporide, Ramipril und deren Kombination auf die Plasmaspiegel von Aldosteron und proANP .....	89
5.3.	Abschließende Betrachtung .....	91

<b>6. Zusammenfassung</b>	92
---------------------------	----

<b>7. Summary</b>	94
-------------------	----

<b>8. Literaturverzeichnis</b>	96
--------------------------------	----

<b>9. Danksagung</b>	124
----------------------	-----

## 1. Abkürzungsverzeichnis

A.	Arterie
Abb.	Abbildung
ACE	Angiotensin-Converting-Enzyme/Angiotensin-Konversions-Enzym
AF	Aortic flow/Aortenfluss
Ang I	Angiotensin I
Ang II	Angiotensin II
ANP	atriales natriuretisches Peptid
ASS	Acetylsalicylsäure
atm	Atmosphäre
BNP	brain natriuretisches Peptid
BP	Blutdruck
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
Ca <sup>2+</sup>	Kalzium
ca.	circa
Car.	Cariporide
CHF	Congestive heart failure
Ck	Creatinkinase
cm	Zentimeter
CRP	C-reaktives Protein
CNP	kardiale natriuretische Peptide
CO <sub>2</sub>	Kohlendioxid
d	day/Tag
DeccT	decceleration time/Abstiegszeit
DG	Disease Group
d.h.	das heißt
dP/dt max	maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit
dP/dt min	maximale Druckabfallsgeschwindigkeit
Dr.	Doktor
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure-Dinatriumsalz-

	Dihydrat
EF l.a.	Ejection fraction/Auswurffraktion lange Achse
eNOS	endotheliale NO-Synthase
et al.	“et alii”
F	French
Fa.	Firma
FS	Fractional shortening/Verkürzungsfraction
g	Gramm
Gr.	Größe
H	Wasserstoff
h	hour/Stunde
HG	Herzgewicht
Hg	Quecksilber
HM	Hämodynamik-Messung
HR	Herzfrequenz
Hz	Hertz
HZV	Herzzeitvolumen
i.m.	intramuskulär
Inf.%	Infarktgebiet in %
iNOS	induzierbare NO-Synthase
i.v.	intravenös
KCl	Kaliumchlorid
Kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
l	Liter
li.	links
LV	linker Ventrikel
LVDed	linksventrikulärer Diameter enddiastolisch
LVDsys	linksventrikulärer Diameter systolisch
LVEDP	linksventrikulärer enddiastolischer Druck
LVEF	linksventrikuläre Auswurffraktion
LVET	linksventrikuläre Auswurfzeit
LVP	linksventrikulärer Druck

LVSed	linksventrikuläres Septum enddiastolisch
LVV	linksventrikuläres Volumen
LVW	Gewicht des linken Ventrikel
M.	Musculus
max.	maximal
mg	Milligramm
MHz	Megahertz
MI	Myokardinfarkt
Min.	Minute
ml	Milliliter
M-Mode	Motion display Modus
MW	Mittelwert
n	Anzahl
Na <sup>+</sup>	Natrium
NHE	Na <sup>+</sup> -H <sup>+</sup> -exchanger/Na <sup>+</sup> -H <sup>+</sup> -Austauscher
nNOS	neuronale NO-Synthase
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoffmonoxidsynthase
NYHA	New York Heart Association
o.a.	oben angeführt
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
op.	operationem
OP	Operation
p	Irrtumswahrscheinlichkeit/Signifikanz
PD	Privatdozent
pH	potentia Hydrogenii „Stärke des Wasserstoffs“ (negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration)
Prof.	Professor
PWed	posteriore Wand enddiastolisch
PWes	posteriore Wand endsystolisch
RAAS	Renin Angiotensin Aldosteron System
Ram.	Ramipril

re.	rechts
Risc. %	Risikogebiet in %
S.	Seite
SAS	sympathisch adrenerges System
s.c.	subcutan
Sek.	Sekunde
SEM	Standard error of mean/Mittlerer Fehler des Mittelwertes
s.o.	siehe oben
sog.	sogenannt
t	time/Zeit
Tab.	Tabelle
t-Test	statistischer Test
u.a.	unter anderem
Vcf	velocity of circumferential fiber shortening/wandspannungsabhängige zirkumferentielle Verkürzungsgeschwindigkeit
vgl.	vergleiche
vs.	versus
WHO	World Health Organization/ Weltgesundheitsorganisation
Wo.	Woche
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil

## 2. Einleitung

### 2.1 Allgemein

Der Myokardinfarkt ist eine der Haupttodesursachen in den westlichen Industrieländern unserer Zeit. Allein in Deutschland sterben von den ca. 80 Mio. Einwohnern 75000 Menschen pro Jahr am akuten Myokardinfarkt, das macht 47% aller Todesfälle aus (Statistisches Bundesamt Wiesbaden, 2003).

Mehr als die Hälfte aller Fälle tritt bei scheinbar gesunden Menschen plötzlich und unerwartet auf. Die Letalität ist in den ersten drei Stunden am höchsten und wird meist durch akute Rhythmusstörungen wie Kammerflimmern verursacht.

Der Herzinfarkt beruht auf einem Verschluss einer oder mehrerer Koronararterien, woraus letztendlich der Untergang des Herzmuskels wegen des Defizits an notwendigem Sauerstoff resultiert. Wird der Infarkt überlebt, kann es in dessen Folge dann zum segmentalen Ausfall der Kontraktion einer oder beider Ventrikel kommen, da die kontraktile Masse und damit die Gesamtkontraktionskraft reduziert sind. Dem folgen Dilatation und strukturelle Umbauprozesse, das sog. „Remodelling“ – es kommt zur chronischen Herzinsuffizienz (Böhm, 2002). Diese zählt neben nicht beherrschbaren Rhythmusstörungen zu den Haupttodesursachen nach einem Myokardinfarkt.

Auch die Herzinsuffizienz zählt zu den häufigsten Erkrankungen besonders in den Industrienationen; allein in Deutschland leiden ca. 1,3 Mio. Menschen an dieser Krankheit. Zwischen 1979 und 1999 hat die Zahl der durch Herzinsuffizienz hervorgerufenen Todesfälle um 145% zugenommen, womit sie die einzig schwere Herzerkrankung ist, die zahlenmäßig ansteigt (American Heart Association 2002). Sie ist aber nicht nur ein gesundheitliches, sondern auch ein gesundheitsökonomisches Problem. Die Behandlungskosten der Herzinsuffizienzpatienten werden weltweit auf über 80 Milliarden Euro jährlich geschätzt, wovon mehr als fünf Milliarden Euro pro Jahr auf Deutschland fallen. Im Alter kommt es zu einem überproportionalen Anstieg der Häufigkeit dieser Erkrankung bei beiden Geschlechtern, was bei einer immer älter werdenden Bevölkerung zu einer ebenso überproportionalen Zunahme in den nächsten

Jahren führen wird (Kamihata et al., 2001). Neben dieser veränderten Altersstruktur ist die Zunahme der Herzinsuffizienzinzidenz jedoch auch auf die größeren Überlebenschancen aufgrund der verbesserten Therapiemöglichkeiten des Myokardinfarktes zurückzuführen, woraus sich eine Herzinsuffizienz am häufigsten entwickelt.

Die Risikofaktoren für den Myokardinfarkt und somit auch größtenteils für die chronische Herzinsuffizienz sind Hypertonie, Hypercholesterinämie, Diabetes mellitus, Adipositas, Nikotinkonsum, erbliche Veranlagung, Alter, Stress, männliches Geschlecht und Bewegungsmangel. Hinzuzufügen sind für die chronische Herzinsuffizienz ohne vorangegangenen transmuralen Myokardinfarkt Hypertonie, Klappenfehler, chronische Vergiftungen und idiopathische Insuffizienz im Rahmen einer dilatativen Kardiomyopathie.

Lange Zeit orientierte man sich bei der Herzinfarktdiagnose an der Herzinfarktdefinition der WHO. Demnach lag ein Myokardinfarkt vor, wenn zwei der folgenden Kriterien erfüllt waren: typische Angina pectoris-Beschwerden, erhöhte kardiale Enzyme (besonders Ck-MB), typischer EKG-Befund (ST-Strecken-Veränderung). In zahlreichen Fällen zeigen Patienten jedoch keine Beschwerden einer Angina pectoris und/oder auch ihr EKG verläuft unauffällig. Ebenso wenig ist Ck-MB alleine aussagekräftig genug. Kardiales Troponin hingegen weist die für einen Herzinfarkt eindeutigen biochemischen Charakteristika auf, was Mitte 2000 zu einer veränderten Definition, das kardiale Troponin mitberücksichtigend, führte.

Ebenso ist die Definition der Herzinsuffizienz seitens der WHO, welche sie als eingeschränkte körperliche Belastbarkeit aufgrund nachgewiesener kardialer Dysfunktion darstellt, inzwischen ergänzt. Vielmehr bezeichnet man sie heute als komplexes klinisches Syndrom, charakterisiert durch Störungen der linksventrikulären Funktion und neurohumoralen Regulation, begleitet von Leistungsminderung, Flüssigkeitsretention und reduzierter Lebenserwartung (Packer, 1988). Je nach Schweregrad wird die Herzinsuffizienz nach den Kriterien der New York Heart Association (NYHA) in vier Stadien (NYHA-Stadium I-IV) eingeteilt.

Behandlungsziele bei beiden Krankheitsbildern sind neben der Prävention des Auftretens und des weiteren Fortschreitens der Erkrankung eine Verbesserung



der Lebensqualität sowie eine Lebensverlängerung. Dies ist heute mit den zur Verfügung stehenden Therapiestrategien zwar zu erreichen, bedarf jedoch einer fortwährenden Ergänzung, um die nach wie vor hohe 5-Jahres-Mortalitätsrate der Herzinsuffizienz von ca. 41% weiter zu senken (Stewart et al., 2001).

## **2.2 Der Myokardinfarkt**

### **2.2.1 Definition und Pathogenese des Myokardinfarktes**

Nach der bisherigen Definition der WHO wurde die Diagnose eines Myokardinfarktes bei Vorliegen von mindestens zwei der drei nachfolgenden Kriterien gestellt: *typische Angina pectoris; Anstieg der Aktivität oder Konzentration kardialer Enzyme im Blut mit typischer Kinetik nach Schmerzsymptomatik; typische EKG-Veränderungen (monophasische ST-Streckenhebungen mit nachfolgendem Umbau des QRS-Komplexes).*

Der Wunsch nach einer präziseren klinischen Definition des akuten Myokardinfarktes und die Verfügbarkeit neuer biochemischer Marker der Myokardnekrose haben zu einer Revision der WHO-Definition des Myokardinfarktes Anlass gegeben, welche das Troponin als biochemischen Marker ins Zentrum rückt. Die neue Definition beinhaltet folgende Kriterien, die für die Diagnose vorhanden sein müssen: *typischer Anstieg und gradueller Abfall (Troponin) oder schneller Anstieg und Abfall (Ck-MB) der biochemischen Marker der Myokardnekrose mit mindestens einem der folgenden Kriterien:*

- a) ischämische Symptome, b) Entwicklung pathologischer Q-Zacken im EKG,*
- c) ST-Hebung oder - Senkung im EKG, d) Koronarintervention (ESC/ACC, 2000).*

Die Pathogenese des akuten Myokardinfarktes wird überwiegend auf eine intravasale Thrombusbildung in Folge der Ruptur einer atherosklerotischen Plaque im Bereich der Koronararterien zurückgeführt. Die kausalen Gefäßwandalterationen beginnen teilweise schon im Kindesalter (Stary, 1989). Die früheste atherosklerotische Gefäßläsion besteht aus Schaumzellen, den sog. „fatty streaks“. Lipide werden hierbei durch aktiven Transport in die Gefäßwand aufgenommen, vermutlich durch Endothelverletzungen initiiert; das dabei oxydierte LDL (Low density Lipoproteine) löst entzündliche Veränderungen aus

(Fuster et al., 1992). Im Folgenden werden monozytäre Zellen angezogen, als Makrophagen in die Gefäßwand aufgenommen, welche das oxydierte LDL dann speichern. Atherogene Risikofaktoren wie Hypercholesterinämie, Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie, Nikotinabusus oder auch eine genetische Prädisposition könnten bei der Endothelverletzung mitwirken, zumindest aber beschleunigen sie die Entwicklung der Läsion. Diese Läsionen führen im weiteren Verlauf zu Reaktionen der Gefäßmedia und -intima (Proliferation der glatten Muskelzellen, Inflammation, Matrix-Degeneration) und sind die Vorboten der atherosklerotischen Plaque. Diese besteht aus einem lipidreichen Kern, der durch eine fibröse Membran zum Gefäßlumen hin abgegrenzt ist (Stary, 1989). Durch eventuelle Größenzunahme kann die Plaque zum einen das betroffene Gefäßlumen einengen, was zu einer Unterversorgung des angeschlossenen Gewebes führt. Vielmehr kann aber seine fibröse Membran instabil werden und rupturieren. Thrombogene Plaquebestandteile werden freigesetzt, was zu einer Thrombozytenaggregation und akuten konsekutiven Thrombusbildung führen kann. Als Ursachen für die Plaqueruptur werden Herzfrequenzanstiege, Änderungen der Katecholaminkonzentrationen im Serum, Entzündungsvorgänge sowie abnorme physische und psychische Belastungen diskutiert (Strauer, 2001). Koronarsklerotische Plaques und solche Myokardthrombosen können nun eine zeitweilige oder chronische Unterversorgung des Herzmuskels verursachen, die sog. Ischämie, welche zum klinischen Syndrom der Angina pectoris oder bei schweren Durchblutungsstörungen zum Herzinfarkt führt.

Inzwischen konnte in verschiedenen Studien nachgewiesen werden, dass bei mehr als der Hälfte der Myokardinfarkte die zugrundeliegende Koronarstenose eine Durchmesserumverminderung von weniger als 50% verursacht. Vielmehr sind es Anzahl und Struktur der vorhandenen Plaques, die mit der Infarktgefährdung korrelieren (Rosenberg et al., 1999).

Bereits 20 Minuten nach einem solchen Koronarverschluss sind im Tierexperiment irreversible Zellschäden nachzuweisen. Sechs Stunden nach dem Verschluss sind 70%, nach 24 Stunden 85% des vom betroffenen Gefäß versorgten Myokards nekrotisch. Die tierexperimentellen Daten belegen, dass es eine subepikardiale Zone gibt, die zwar ischämisch ist, aber durch

wiedereinsetzende Durchblutung innerhalb der ersten sechs Stunden nach Gefäßverschluss gerettet werden kann (Reimer et al., 1977).

#### **2.2.1.1 Ischämische Herzmuskelnekrose**

Während der Ischämie ist das Gewebe mit Sauerstoff und Substraten unterversorgt. Durch die Verringerung des Blutflusses können sich toxische Stoffwechselprodukte anhäufen. Bereits nach kurzer Zeit einer Koronarokklusion, bedingt durch die Hypoxie und die daraus resultierende Umschaltung von aerobem auf anaerobem Stoffwechsel, beginnt der rasche Abbau energiereicher Phosphate sowie Glycogenreserven. Hierdurch kommt es zu Störungen ATP-abhängiger Zellsysteme und aktive Transportvorgänge der Zelle ändern sich. Daraus resultieren Ionenverschiebungen und Störungen des osmotischen Gleichgewichts, die zu einer Zellschwellung führen. Auf klinischer Ebene kommt es hiernach zu Veränderungen im Aktionspotential und damit zu Abweichungen im EKG, wie Hebungen oder Senkungen der ST-Strecke (ECC Guidelines, 2000). Der anaerobe Stoffwechsel führt außerdem zu Laktatproduktion, folgender Gewebeazidose und Störungen der Membranintegrität (Jennings et al., 1991). In diesem Zustand können die genannten Schädigungen noch reversibel sein. Kommt es jedoch durch die gestörte Membranintegrität zu starkem Ionen- und Flüssigkeitseinstrom in die Zelle, kann diese durch zu starkes Anschwellen rupturieren. Dies ist der Übergang zu einer irreversiblen Zellschädigung. Die irreversiblen Schädigungen sind durch den Austritt von Enzymen aus dem Zytosol, wie z.B. Kreatinkinase und Laktatdehydrogenase gekennzeichnet (Walter et al., 1991).

Die Folgen der Ischämie hängen unter anderem von ihrer Dauer ab. Nach einer Ischämiezeit von weniger als drei Minuten bleiben keine Schäden. Ist die Ischämie jedoch von längerer Dauer, hängen die Auswirkungen von der momentanen funktionellen Aktivität und damit Toleranz des jeweiligen Gewebes ab. So zeigten z.B. Vinten-Johansen et al., dass sich die Toleranz eines Gewebes gegenüber Ischämie durch Absenken der Temperatur beträchtlich steigern lässt (Vinten-Johansen et al., 2000).

Durch rechtzeitig einsetzende Reperfusion der ischämischen Zone kommt es in der Regel zu einer Erholung der reversibel geschädigten Zellen. Somit beschränkt sich der nekrotische Bereich auf die irreversibel geschädigten Areale.

### **2.2.2 Symptomatik und Diagnostik des Myokardinfarktes**

Das klinische Bild des akuten Herzinfarktes ist durch unterschiedliche, zum Teil stark wechselnde Symptome charakterisiert. In der Mehrzahl der Fälle lässt sich eine sog. Myokardinfarkt-Trias nachweisen: heftige retrosternale Schmerzen, Blutdruckabfall und Tachykardie. Das Leitsymptom, akuter Brustschmerz, tritt in 70% aller Fälle retrosternal auf, teilweise auch linksthorakal oder seltener epigastrisch. Gelegentlich können die Schmerzen auch in der linken Schulter oder im Rücken lokalisiert sein. Eine Ausstrahlung der Schmerzen erfolgt meist in den linken Arm oder die linke Schulter, in manchen Fällen auch in Rücken, Hals oder Unterkiefer. Die Schmerzintensität kann hierbei zu- und abnehmen, eventuell vorübergehend sogar ganz verschwinden (Hausmann et al., 1998). Im Gegensatz zum Angina pectoris-Anfall sind vor allem die Brustschmerzen stärker, von längerer Dauer und nach Nitroglycerin-Gabe nicht wesentlich verbessert. Etwa 50% aller Patienten mit akutem Myokardinfarkt erleiden Luftnot, insbesondere bei Vorliegen einer Linksherzinsuffizienz. Je nach Ausmaß der Größe des Infarktes können bei manchen Patienten Schocksymptome wie Blässe, Tachykardie und Hypotonie hinzukommen, etwa 30% haben zudem gastrointestinale Symptome wie Übelkeit und Erbrechen. Hierzu können unspezifische Zeichen wie Unruhe, Todesangst und vor allem Schwitzen hinzutreten (Hausmann et al., 1998).

Ein akuter Myokardinfarkt lässt sich in erster Linie klinisch anhand der vorliegenden Symptome diagnostizieren. Von entscheidender diagnostischer Bedeutung ist daneben das EKG. Dieses ist bei Krankenhausaufnahme bei ca. 70% der Patienten infarkttypisch verändert. Das EKG unterscheidet hierbei innerhalb der Patienten mit akutem Myokardinfarkt solche mit nicht-transmuralem (Nicht-Q-Zacken)-Infarkt von solchen mit transmuralem (Q-Zacken)-Infarkt. Da in der frühen Infarktphase der QRS-Umbau noch nicht stattgefunden hat, wird zudem in der akuten Infarktphase der Infarkt mit und ohne ST-Streckenhebungen unterschieden (Giannitsis et al., 2001). Bei allem

schließt jedoch ein normales EKG den akuten Myokardinfarkt nicht aus. Bei symptomatischen Patienten mit neu aufgetretenen ST-Streckenhebungen liegt mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit ein akuter Myokardinfarkt vor (Ryan et al., 1999). Zur Erhaltung von vitalem Myokard ist bei diesen Patienten schnellstmöglich eine Reperfusionstherapie indiziert. Sämtliche kardiale Enzyme und Markerproteine, wie Ck-MB, Troponin oder LDH, benötigen eine gewisse Zeit, bis sie im Blut erhöht und nachweisbar sind.

### **2.2.3 Therapie des Myokardinfarktes**

Bei der Therapie des akuten Myokardinfarktes besteht ein enges Zeitfenster. Allein 37% der betroffenen Personen sterben bereits vor Erreichen des Krankenhauses (Löwel et al., 1999). Die zunächst mögliche präklinische Therapie entspricht den üblichen Regeln der Notfallmedizin (Angst- und Schmerzbekämpfung, Sauerstoffgabe). Weiterhin werden in diesem Stadium zur symptomatischen und hämodynamischen Therapie Nitrate, sowie zur antithrombotischen Therapie Azetylsalizylsäure verabreicht, und durch die Gabe von  $\beta$ -Blockern wird der myokardiale Sauerstoffbedarf gesenkt (Hausmann et al., 1998). Daneben sollte eine Antikoagulation mit Heparin erfolgen (Rupprecht et al., 2002).

Hiernach wird jedoch eine invasive Therapie angestrebt, da die Myokardschädigung nach Koronarverschluss proportional der Verschlussdauer ist (Reimer et al., 1977). Eine Reperfusion dieser thrombotisch verschlossenen Gefäße geht mit einer Letalitätssenkung einher, wobei die frühe Wiedereröffnung sogar zu einem überproportionalen Rückgang der Letalität führt (Boersma et al., 1996). Daraus ergeben sich folgende Forderungen an eine optimale Reperusionsstrategie: die Therapie der Koronarperfusion sollte möglichst schnell, vollständig, dauerhaft und mit geringen Nebenwirkungen erfolgen. Diese Reperfusionstherapie erfolgt entweder mit Hilfe von Thrombolytika oder interventionellen Verfahren wie PTCA (percutaneous transluminal coronary angioplasty) bzw. einer Bypass-Operation.

Für die systemische Thrombolysetherapie stehen je nach Indikationsstellung Streptokinase und deren Abkömmling APSAC, Urokinase, Alteplase und Reteplase zur Verfügung (Martens, 2001). Obwohl diese Therapieform in der weit

überwiegenden Zahl der Patienten mit akutem Myokardinfarkt zum Einsatz kommt, gibt es einen hohen Prozentsatz von Patienten, die aufgrund verschiedener Kriterien von einer Lysebehandlung ausgeschlossen werden müssen. Hier bietet sich die alternative Anwendung der primären PTCA an. In 23 randomisierten Studien wurde die PTCA mit der Thrombolyse verglichen, mit dem Ergebnis, dass die primäre PTCA in dafür ausgestatteten Kliniken der überlegenere Therapieansatz ist (Keeley et al., 2003). In 10 randomisierten Studien mit verschiedenen Lyseprotokollen konnte bis auf eine Ausnahme auch eine Reduktion der Frühsterblichkeit durch primäre PTCA im Vergleich zur Lysetherapie belegt werden (Mannebach et al., 2000). Der adjuvante Einsatz von Stents nach vorausgegangener PTCA des Infarktgefäßes hat zu einer weiteren Senkung der Frühsterblichkeit geführt (Antoniucci et al., 1998; Rodriguez et al., 1998; Stone et al., 1998; Suryapranata et al., 1998). Problem der Intervention am Koronargefäß beim akuten Myokardinfarkt bleiben Neubildung oder Verschleppung intravasaler Thromben distal des ursprünglichen Verschlusses und der frühe Reverschluss nach primär erfolgreicher Rekanalisation. Hier hat die Einführung der Glykoprotein-IIb/IIIa-Rezeptoren-Blocker prognostisch einen Fortschritt gebracht (Grantham et al., 1998). Diese verhindern die direkte Plättchen-Plättchen-Interaktion und damit die Aggregatbildung im arteriellen Stromgebiet. Sie können sowohl prophylaktisch bei der PTCA, als auch in Kombination mit Fibrinolytika gegeben werden (Antman et al., 1999).

Neben dieser Akuttherapie ist auch die Therapie nach einem akuten Myokardinfarkt bedeutungsvoll. Neben einer Risikofaktorenreduktion als Grundlage, ist insbesondere die medikamentöse Therapie hinsichtlich der Prävention des ventrikulären Remodelling und der Sekundärprävention erneuter atherothrombotischer Ereignisse essentiell. Vor allem das Remodelling ist eine der Hauptdeterminanten für die konsekutive Entwicklung einer Herzinsuffizienz.

Ziele und Angriffspunkte der medikamentösen Postinfarkttherapie sind zunächst einmal, neue Akutereignisse durch antithrombotische Therapie zu reduzieren. Eine signifikante Senkung der Letalität und Reinfarktinzidenz um 25% konnte diesbezüglich in verschiedenen Postinfarktstudien mit ASS demonstriert werden (Antiplatelet Trialists' Collaboration, 1994). Als weiteres Ziel gilt, die

Wahrscheinlichkeit einer Plaque-Ruptur herabzusetzen. Dies gelingt durch Maßnahmen wie ACE-Hemmung, da in atherosklerotischen Plaques in den Zellen der fibrösen Kappe und den Entzündungszellen des Randbereichs eine sehr hohe ACE-Aktivität nachgewiesen werden konnte. Zusätzlich kommt es zur Einwanderung von ACE-reichen Makrophagen, assoziiert mit einer Ruptur der fibrösen Kappe (Darius et al., 2001). Auch die Statine haben neben den lipidsenkenden Eigenschaften sogenannte Non-Lipid-Effekte, welche zur Reduktion der Wahrscheinlichkeit einer Plaqueruptur beitragen (Ross, 1999). Schließlich ist auch die Verhinderung des linksventrikulären Remodellings mittels ACE-Hemmer (Gibbons et al., 1994) und durch die antiadrenergen Effekte der  $\beta$ -Blocker ein wichtiges therapeutisches Ziel in der Postinfarkttherapie (Genth-Zotz et al., 2000).

Falls keine spezifischen Kontraindikationen vorliegen, beinhaltet demnach eine optimale medikamentöse Therapie nach Myokardischämie neben Acetylsalicylsäure einen ACE-Inhibitor, ein Statin und einen  $\beta$ -Blocker.

### **2.2.3.1 Reperfusionsschaden**

Die möglichst frühzeitige Reperfusion ist wesentlich für das Überleben des ischämischen Myokards. Mit Einsetzen der Reperfusion werden Zellprodukte, die sich während des Gefäßverschlusses im azidotischen Milieu anhäufen konnten (z.B. Laktat), ausgewaschen. Die Reperfusion des ischämischen Herzmuskelbereichs hat zum einen die Reoxygenation, Substratzufuhr, Normalisierung des Gewebs-pH und der Osmolarität zur Folge. Zum anderen geht dieser Prozess jedoch auch mit gewebeschädigenden Effekten einher. Black bezeichnet den Reperfusionsschaden als Syndrom verschiedener negativer pathologischer Vorgänge, welche Gefäßschädigung, Arrhythmien, myokardiales Stunning (reversible postischämische Dysfunktion des Herzens bei wiederhergestellter Durchblutung) und Ausbreitung des Gewebeschadens beinhalten (Black, 2000). Zu den hierbei involvierten Mechanismen zählen u.a. die Bildung freier Sauerstoffradikale mittels neutrophiler Granulozyten, die direkt zum Reperfusionsschaden beitragen. Zusätzlich sind weitere Blutzellen miteinbezogen, wie Monozyten und Thrombozyten, aber auch weitere Systeme im Sinne der Komplementaktivierung, Ausschüttung proinflammatorischer

Zytokine, Leukotrienbildung und prothrombotischer Veränderungen des Gerinnungsstatus (Hill, 1998; Becker et al., 2000). Ebenso ist der  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Austauscher involviert (Black, 2000). Wie unter 2.4.1 beschrieben, kommt es zu Reperfusionsbeginn zu einem  $\text{Ca}^{2+}$ -overload der Zelle infolge erhöhter intrazellulärer Natrium-Konzentration und negativen Effekten wie Nekrosen, Arrhythmien, Hyperkontraktilität und Zelluntergang.

In Anbetracht der negativen Auswirkungen, die eine Reperfusionstherapie mit sich zieht, muss das Risiko einer zusätzlichen Schädigung des Myokards in einem vertretbaren Verhältnis zum therapeutischen Nutzen der Revaskularisierungsmaßnahme stehen.

## **2.3 Herzinsuffizienz**

### **2.3.1 Definition und Klassifikation der Herzinsuffizienz**

Die Herzinsuffizienz stellt keine distinkte Erkrankung dar, sondern vielmehr einen Komplex vieler klinischer Krankheitsbilder. Die Mannigfaltigkeit der Störungen ist charakterisiert durch Abnormalitäten der kardialen, skelettmuskulären und renalen Funktion, sowie durch eine Stimulation des sympathischen Nervensystems und komplexen neurohumoralen Veränderungen (Jackson et al., 2000). Bedingt durch diese multisystemischen Störungen bezieht die Charakterisierung der Herzinsuffizienz nicht nur die Physiologie des Herzens mit ein, sondern auch konsekutive Veränderungen in der Peripherie. Demnach erfolgt die Definition der kardialen Dysfunktion unter Berücksichtigung des gesamten kardiovaskulären Systems. Im allgemeinen spricht man von einer Herzinsuffizienz, wenn bei ausreichendem Blutangebot aus der Peripherie sowie ausreichendem enddiastolischen Füllungsdruck das Herz nicht mehr in der Lage ist, das vom Organismus benötigte Herzzeitvolumen zu fördern (Denolin et al., 1983). Klinisch liegt dann eine Herzinsuffizienz vor, wenn typische Symptome wie Dyspnoe, Müdigkeit und Flüssigkeitsretention bestehen, denen ursächlich eine kardiale Funktionsstörung zugrunde liegt (WHO, 1995).

Zur Charakterisierung der Herzinsuffizienz werden verschiedene Termini verwendet. In bezug auf den zeitlichen Verlauf unterscheidet man eine meist schnell und binnen Minuten bis weniger Stunden entstehende akute



Herzinsuffizienz von der chronischen Form. Des weiteren wird, je nachdem ob der linke oder der rechte Ventrikel maßgebend am Pumpversagen beteiligt ist, eine Linksherzinsuffizienz von einer Rechtsherzinsuffizienz differenziert. Ist jedoch die Pumpfunktion beider Herzkammern eingeschränkt, spricht man von einer Globalinsuffizienz. Kausale Faktoren für die akute Linksherzinsuffizienz sind akuter Myokardinfarkt, akute Myokarditiden, hypertone Krisen, Perikardtamponaden (mechanische Behinderung der Ventrikelfüllung), Rhythmusstörungen und akute Klappeninsuffizienzen. Einer chronischen, sich langsam über Jahre hin entwickelnden Linksherzinsuffizienz hingegen liegen insbesondere eine koronare Herzerkrankung oder arterielle Hypertonie zugrunde. Seltener sind Kardiomyopathien, Klappenfehler, Herzrhythmusstörungen und angeborene bzw. erworbene Herzfehler sowie toxische Schädigungen (z.B. Alkohol) ursächlich für eine chronische Herzinsuffizienz (Mutschler, 1997).

Die Rechtsherzinsuffizienz ist häufig Folge eines chronischen Rückwärtsversagens des linken Herzens, wobei sich in fortgeschrittenen Fällen Blut nicht nur in der Lunge sondern bis zum rechten Herzen hin staut. Weitere Ursachen für eine chronische Überbelastung sind Mitralisstenose, Pulmonalstenose und pulmonale Hypertonie (Roskamm & Reindell, 1982). Kausal eher selten zu finden sind Myokarditiden sowie ein Myokardinfarkt, der nicht nur den linken, sondern in diesem Fall auch den rechten Ventrikel betrifft. Schließlich können Funktionsstörungen des Herzens sowohl die Diastole als auch die Systole betreffen, wonach man pathophysiologisch eine diastolische von einer systolischen Dysfunktion unterscheidet. Die häufiger auftretende systolische Dysfunktion entspricht einer Einschränkung der Entleerung des linken Ventrikels, die sich in einer verminderten Auswurfraction ( $<40\%$ ) widerspiegelt. Es können hierfür ischämische (koronare Herzkrankheit) und eine Vielzahl nichtischämischer Ursachen (von Hypertonie bis zu Alkoholabusus) verantwortlich sein, wobei die koronare Herzkrankheit etwa zwei Drittel aller Fälle ausmacht (Gomberg-Maitland, 2001). Die „reine“ diastolische Dysfunktion ist mit einem erhöhten Füllungsdruck aber erhaltener systolischer Pumpfunktion verbunden (Mandinov et al., 1997). Ihr liegt primär eine Relaxations-, eine Compliancestörung oder auch eine Kombination aus beidem

zugrunde. Eine diastolische Dysfunktion liegt, wenn auch häufig kombiniert mit einer systolischen Funktionsstörung, bei etwa einem Drittel der Patienten vor.

Die Schweregrade der Herzinsuffizienz werden nach Empfehlung der *New York Heart Association* (1964) anhand anamnestischer und einfacher klinischer Kriterien in vier Klassen eingeteilt (NYHA I-IV):

- I. Herzerkrankung ohne körperliche Einschränkung. Alltägliche körperliche Belastung verursacht keine Beschwerden.
- II. Herzerkrankung mit leichter Einschränkung der körperlichen Leistungsfähigkeit. Keine Beschwerden in Ruhe. Stärkere körperliche Belastung ruft Beschwerden hervor.
- III. Herzerkrankung mit höhergradiger Einschränkung der körperlichen Leistungsfähigkeit. Keine Beschwerden in Ruhe. Geringe körperliche Belastung löst Beschwerden aus.
- IV. Herzerkrankung mit Beschwerden bei allen körperlichen Aktivitäten und in Ruhe. Bettlägerigkeit.

### **2.3.2 Pathogenese und Pathophysiologie der Herzinsuffizienz**

In der weit überwiegenden Zahl der Fälle ist die Herzinsuffizienz eine sekundäre Entwicklung. Epidemiologisch steht heute die koronare Herzkrankheit (KHK) als Hauptursache im Vordergrund, wobei die Framingham Studie zeigte, dass viele der KHK-Patienten ebenfalls an Hypertonie erkrankt sind (Ho et al., 1993). Zusätzlich spielen dilatative Kardiomyopathien und Klappendysfunktionen eine Rolle (Sharma et al., 2000). Nicht zuletzt stellt auch der Diabetes mellitus einen Risikofaktor bei etwa 25% der Patienten dar (Cowie, 1997).

Die beiden Hauptursachen betrachtend, kann eine Herzinsuffizienz sowohl durch chronische Druckbelastung mit konsekutiver Myokardhypertrophie, als auch über einen Myokardinfarkt, mit Ausfall der kontraktilen Reserve, infolge einer KHK entstehen.

Unabhängig jedoch von der Ursache geht das komplexe Bild der Herzinsuffizienz mit zahlreichen Kompensationsmechanismen einher.

Nach einer initialen myokardialen Schädigung oder auch bei chronischen Belastungen (z.B. arterieller Hypertonie) kommt es kompensatorisch zu einer ventrikulären Dilatation und Myozytenhypertrophie mit Zunahme der

Myokardmasse (Cohn et al., 2000). Hierbei verändern sich sowohl die Dimensionen als auch die Form des Ventrikels, ein adaptiver Prozess, der als Remodelling bezeichnet wird (Baig et al., 1998). Kausale Faktoren für die Hypertrophie sind hier neben dem Verlust kontraktile Elemente (z.B. durch Myokardinfarkt) auch die mechanische Dehnung des Myokardgewebes (Sadoshima et al., 1992). Eine neurohumorale Aktivierung sowie verschiedene trophische Faktoren (Parker et al., 1990) sind zusätzlich für eine Fibrosierung verantwortlich (Baig et al., 1998). So kann zunächst ein Anstieg der myokardialen Wandspannung kompensiert werden, also die Belastung der einzelnen Herzmuskelfasern reduziert bzw. normalisiert werden (Anversa et al., 1996) und damit die Kontraktilität erhalten bleiben (Pfeffer et al., 1990). Die Konsequenzen dieses Prozesses jedoch führen in einen Circulus vitiosus, da die genannten Vorgänge nicht begleitet sind von einer vermehrten Angiogenese und damit verbesserten Versorgung des Myokards mit Sauerstoff und Substraten. Es kommt zu Ischämien und erhöhtem Sauerstoffbedarf, zudem führt die Fibrosierung des Gewebes zu reduzierter Kapillargefäßdichte, verschlechterter Kontraktilität und herabgesetzter diastolischer Dehnbarkeit des Ventrikels (Baig et al., 1998). Ebenso ein Merkmal dieses Prozesses ist der Verlust von Kardiomyozyten, entweder in Form von Nekrose oder Apoptose (Beltrami et al., 1995; Kajstura et al., 1995), was zusätzlich einen Verlust der Kontraktilität fördert. Schließlich sind, diesen Parameter betreffend, auch Veränderungen in der Kalziumhomöostase vorhanden. Das am Kontraktionszyklus beteiligte Kalzium und das freie Kalzium sind reduziert (Beuckelmann et al., 1992; Hasenfuss et al., 1992), was vermutlich durch Störungen auf Ebene des sarkoplasmatischen Retikulums hervorgerufen wird (Fuchs et al., 2000). Letztlich besteht auch die Gefahr der Arrhythmogenese.

Neben dem Remodelling kommt es im Verlauf einer Herzinsuffizienz wie oben erwähnt zu weiteren Kompensationsprozessen auf Ebene der neurohumoralen Systeme. Hierzu gehören das sympathoadrenerge System (SAS), das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS), das Endothelin-System, Stickstoffmonoxid (NO), das Hormon Vasopressin, natriuretische Peptide und auch pro- und anti-inflammatorische Zytokine. Die funktionellen Konsequenzen der neurohumoralen Aktivierung sind, dass bei fallendem Herzzeitvolumen der

Perfusionsdruck des Gewebes hauptsächlich über die Erhöhung des peripheren Widerstandes und einer Kochsalz- bzw. Flüssigkeitsretention aufrechterhalten wird. Hieraus entsteht jedoch ein Circulus vitiosus, da die arterielle Vasokonstriktion zunimmt und somit der Entleerungswiderstand, gegen den die Kammern arbeiten müssen. Folglich steigt der Sauerstoffbedarf des Herzens, was noch zusätzlich über die Katecholaminerhöhung und damit Zunahme der Inotropie und Herzfrequenz verstärkt wird. Über die periphere Vasokonstriktion kommt es des weiteren zu einer Umverteilung der Organperfusion zu Gunsten einer ausreichenden Versorgung des Gehirns und Herzens, jedoch auf Kosten von Haut, Nieren und Skelettmuskel. Im Verlauf kommt es so zu Flüssigkeitsretention, Arrhythmogenität, Katecholaminrefraktärität sowie strukturellen Veränderungen des Herzens. Die neurohumorale Aktivierung sollte also im Verlauf als treibende Kraft bei der Entwicklung der chronischen Herzinsuffizienz angesehen werden. Die Messung betreffender Marker sollte daher eine hohe prognostische Bedeutung zugeschrieben bekommen (Fuchs et al., 2000).

Das sympathische Nervensystem wird unter physiologischen Bedingungen bei körperlicher Aktivität stimuliert. Bei Patienten mit schwerer Herzinsuffizienz kommt es frühzeitig und bereits in Ruhe zu einer zwei- bis dreifachen Erhöhung der Sympathikusaktivität (Böhm, 2002). Diese Aktivierung des sympathischen Nervensystems erfolgt über sog. Barorezeptoren, die Druck-, Volumen- oder Frequenzveränderungen in großen Gefäßen oder im Herzen wahrnehmen und an das zentrale Nervensystem mitteilen. Durch reaktiv erhöhte Katecholaminspiegel kommt es zu Überstimulation der kardiovaskulären sympathischen Rezeptoren und folgenden Effekten: gesteigerte myokardiale Kontraktilität, Tachykardie, arterielle und venöse Vasokonstriktion, mit konsekutiv erhöhter kardialer Nach- und Vorlast (Schrier et al., 1999). Dieser Mechanismus kann zunächst die Insuffizienz kompensieren, jedoch trägt er längerfristig zum Voranschreiten der Krankheit bei. Es ist bekannt, dass eine andauernde Stimulation von  $\beta_1$ -Adrenozeptoren eine Apoptose induziert (Communal, 1999). Des weiteren wird die exzessive sympathische Aktivität mit Hypertrophie und fokaler myokardialer Nekrose assoziiert (Jackson et al., 2000).

Vor allem aber sind es o.a. Effekte der andauernden sympathischen Aktivierung, die zu Minderversorgungen und zusätzlichen Belastungen des Myokards führen. Insgesamt fördert somit dieser eigentliche Kompensationsmechanismus die Progression der Herzinsuffizienz (Abraham, 2000).

Die Aktivierung des renalen Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) tritt im Gegensatz zu der des sympathischen Nervensystems erst bei Auftreten klinischer Symptome hinzu (Fuchs et al., 2000). Sie erfolgt über die Reduktion der Natriumkonzentration im proximalen Anteil des distalen Tubulus der Niere, den Abfall des intrarenalen Perfusionsdrucks und über die Stimulation des sympathischen Nervensystems ( $\beta_1$ -Rezeptor-vermittelt) mit Wirkung auf juxtaglomeruläre Zellen. Grundsätzlich kommt es zu einer Aktivierung des zirkulierenden und gewebsständigen RAAS (Francis et al., 1993).

Eine Erhöhung der Plasmareninaktivität findet sich insbesondere bei der schweren dekompensierten Herzinsuffizienz (Böhm et al., 2002). Es kommt infolge dessen zu einer von Renin katalysierten Bildung von Angiotensin I, welches dann durch das Angiotensin-Konversions-Enzym (ACE) in das biologisch aktive Angiotensin II umgewandelt wird. Angiotensin II ist ein potenter Vasokonstriktor der renalen und systemischen Zirkulation (Jackson et al., 2000). Dort stimuliert es auch die Freisetzung von Noradrenalin, dessen Effekte im vorangegangenen Absatz erläutert wurden. Weiterhin kommt es durch Angiotensin II zu einer Ausschüttung von Aldosteron, welches zu einer vermehrten Natrium- und Wasserretention führt (Jackson et al., 2000), was wiederum eine Blutvolumenzunahme und einen Anstieg des Blutdrucks zur Folge hat. Neben der systemisch hämodynamischen Wirkung des Angiotensin II übt es auch die Rolle eines auto- und parakrinen Hormons aus, indem es auf zelluläre Funktionen wie Wachstum und Differenzierung Einfluss nimmt (Dell'Italia et al., 1997; Studer et al., 1994). Es konnte für Angiotensin II sogar eine Myozyten- und Fibroblasten-Hypertrophie (Sadoshima et al., 1993), eine differenzierte Regulation vieler Faktoren des Kollagenstoffwechsels (Brilla et al., 1994), die Stimulation der Synthese proinflammatorischer Zytokine und die Induktion der Apoptose (Kajstura et al., 1997) gezeigt werden. Ebenso stellte sich im Tierexperiment heraus, dass Aldosteron an der Genese der post-

Myokardinfarkt reaktiven Fibrose beteiligt ist (Silvestre et al., 1999).

Das unter erhöhten Angiotensin-Konversions-Enzym-Spiegeln vermehrt abgebaute Bradykinin fungiert zum einen als Vasodilatator, zum anderen wird es für eine Zahl kardioprotektiver Funktionen verantwortlich gemacht (Linz et al., 1997; Wollert et al., 1997). Dieser vermehrte Abbau unterstützt folglich zusätzlich den Prozess der Herzinsuffizienz, da das normalerweise herrschende Gleichgewicht nicht aufrecht erhalten werden kann, sondern zu Gunsten der Vasokonstriktion verschoben ist (Drexler, 1998; Zelis et al., 1982).

Auch der potente Vasokonstriktor Endothelin-1 (ET-1) ist im Plasma herzinsuffizienter Patienten nachweisbar erhöht (Wei et al., 1994; Pacher et al., 1993) und trägt zu der Erhöhung des peripheren Widerstandes bei (Fuchs et al., 2000). Die Erhöhung des Plasmalevels korreliert mit der Schwere der Herzinsuffizienz, unabhängig welche Ursache die Krankheit hat (Baig et al., 1998).

Endothelin-1 wird von Endothelzellen gebildet und verursacht die Vasokonstriktion über zwei Rezeptoren A und B. Wie durch Angiotensin II kommt es hier zu einer Erhöhung der Nachlast und zu einer Beeinträchtigung der myokardialen Kontraktilität (Böhm, 2002). Zusätzlich greift ET-1 in das Zusammenspiel von Kollagensynthese und -abbau ein, wobei erste experimentelle Studien mit Endothelin-Rezeptor-Antagonisten eine Reduktion des Remodellings zeigen (Fuchs et al., 2000).

Auch Stickstoffmonoxid (NO) spielt eine wichtige Rolle in der unter physiologischen Bedingungen zirkulatorischen Balance von Vasokonstriktion und -dilatation. Bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz kommt es durch Endothelfunktionsstörungen zu einer verminderten Bioverfügbarkeit von Stickstoffmonoxid. NO kann durch drei verschiedene Enzyme aus L-Arginin in der Endothelzelle generiert werden: die neuronale NO-Synthetase (nNOS), die endotheliale NO-Synthetase (eNOS), die induzierbare NO-Synthetase (iNOS) (Forstermann et al., 1991). Die beiden erstgenannten werden durch Kalziumeintritt in die Zelle aktiviert und sind konstitutiv exprimiert, die iNOS hingegen ist kalzium-unabhängig, ihre Synthese ist induziert durch Stimuli wie

Endotoxine und proinflammatorische Zytokine, deren Freisetzung bei Zunahme der Wandspannung ansteigt (Szabo et al., 1995). Unter physiologischen Bedingungen ist die iNOS im Herzen nicht vorhanden, wird aber bei der Herzinsuffizienz exprimiert (Drexler et al., 1998). Hingegen ist die eNOS die physiologischerweise im Herzen vorherrschende NOS-Isoform (Radomski et al., 1995). Die NO-Produktion durch die iNOS führt über Peroxynitrit und andere toxische Metaboliten zu Apoptose und zytotoxischen Effekten auf die Kardiomyozyten. Als Folge dieser Schädigungen nimmt die Wandspannung weiter zu (Fuchs et al., 2000). Das von der eNOS gebildete NO reguliert physiologischerweise die Vasorelaxation, hemmt die Plättchenadhäsion und -aggregation, die Proliferation glatter Muskelzellen, die Monozytenadhäsion, die Expression verschiedener Adhäsionsmoleküle sowie die ET-<sub>1</sub>-Produktion (Radomski et al., 1987; Taddei et al., 2000). Weiterhin konnte die eNOS als ein wichtiger Regulator des myokardialen Sauerstoffverbrauchs, und damit der myokardialen Effizienz, identifiziert werden (Trochu et al., 2000). Während des Voranschreitens der Herzinsuffizienz nimmt jedoch die eNOS-Expression ab, was ein weiterer Faktor ist, der den Prozess der Insuffizienz unterstützt.

Vasopressin (antidiuretisches Hormon, ADH) ist ein Polypeptid, dessen Wirkungen durch zwei verschiedene Rezeptortypen vermittelt wird: Aktivierung der V1-Rezeptoren führt zu Vasokonstriktion; Aktivierung der V2-Rezeptoren induziert vermehrte Flüssigkeitsretention (Schrier et al., 1998). Bei der Herzinsuffizienz ist zum einen die reduzierte Auswurfleistung, zum anderen die Stimulation des RAAS und des Sympathikotonus verantwortlich für eine erhöhte Vasopressinausschüttung (Goldsmith, 1992; Martin et al., 1997). Im Rahmen dieses erhöhten Vasopressinspiegels kommt es zu weiterer Volumenbelastung und Vasokonstriktion und somit zu einem fördernden Einfluss auf die Progression der Erkrankung.

Natriuretische Peptide (NP) wie das „atriale“ (ANP) und das „brain“ (BNP) werden im Vorhofmyokard (ANP) bzw. im Ventrikelmyokard (BNP) gebildet. Ihre Aktivierung erfolgt als Reaktion auf Dehnung des Ventrikel- und Vorhofmyokards, etwa als Folge eines erhöhten intrakardialen Drucks. Die

physiologische Bedeutung des NP-Systems scheint in der Regulation des Blutdrucks und des Elektrolythaushalts zu liegen, da genetisch defiziente Mäuse eine Hypertonie und Myokardhypertrophie entwickeln (Oliver et al., 1997). Pathophysiologisch wird die Stimulation des NP-Systems bei Hypertonie und Herzinsuffizienz als kompensatorischer Mechanismus angesehen, wobei die NPs der neuroendokrinen Aktivierung entgegenwirken (Mills et al., 1999). Zahlreiche Studien haben zeigen können, dass die Konzentrationen der NPs sehr gut mit der linksventrikulären Ejektionsfraktion des Herzens negativ korrelieren. BNP zeigt hierbei eine deutlichere Abhängigkeit von der klinischen Schwere der Herzinsuffizienz als ANP (Mair et al., 2001).

Auch die Zytokinaktivierung scheint relevant für die Progression der Herzinsuffizienz zu sein. Seit langem ist die kontraktilitätshemmende Wirkung von Entzündungs- und Infektionsmediatoren bekannt (Guntherot et al., 1982; Solis et al., 1966). Des weiteren verursachen Zytokine einen Myozytenuntergang sowie eine Fibrosierung (Staudt et al., 2002). In neueren Untersuchungen konnten erhöhte Plasmaspiegel von einigen proinflammatorischen Zytokinen wie Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNF-alpha), Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) und Interleukin-6 (IL-6) im Rahmen der chronischen Herzinsuffizienz nachgewiesen werden (Fuchs et al., 2000).

### **2.3.3 Symptomatik und Diagnostik der Herzinsuffizienz**

Die Sicherung der Diagnose einer chronischen Herzinsuffizienz beruht auf der typischen Symptomatik des Patienten. Hierzu gehören Leistungsminderung, generelle Müdigkeit, Belastungsdyspnoe, paroxysmale nächtliche Dyspnoe mit eventuellem Husten, sowie die klinischen Befunde der Ödeme abhängiger Körperpartien, Tachykardie, Hepatomegalie, Aszites, Jugularvenenstauung, pulmonale Rasselgeräusche, Kardiomegalie und ein dritter Herzton. Des weiteren wird in der Regel eine zugrundeliegende Herzerkrankung nachgewiesen (Hoppe et al., 1998).

Für eine akkurate Diagnosestellung wird als Basisuntersuchung das EKG angewandt, was von zentraler Bedeutung für die Interpretation des Herzrhythmus ist. Weiterhin zählen das Thorax-Röntgen, die Echokardiografie



und Laboruntersuchungen zu den Routinediagnostika. Weiterführende Diagnostik umfasst die Lungenfunktionsprüfung, um respiratorische Ursachen von Dyspnoe auszuschließen. Ebenfalls hierzu gehört die Radionuklidventrikulografie zur Beurteilung der Ventrikelfunktion, sowie die (Spiro-)Ergometrie als Belastungstest, wobei jedoch dies von limitiertem Nutzen ist, da eine normale körperliche Belastbarkeit eine Herzinsuffizienz nicht ausschließt. Schließlich zählt zu den weiterführenden Methoden auch die Magnetresonanztomografie, um eine Darstellung der kompletten Morphologie des Herzens, seiner benachbarten Strukturen und der intrakardialen und intravasalen Volumina zu erhalten (Kindermann et al., 2002). Invasive Abklärungen wie die Herzkatheteruntersuchung sind meist nicht notwendig zur Diagnose der Herzinsuffizienz, jedoch zur Abklärung der Ätiologie (Rickenbacher, 2001).

### **2.3.4 Therapie der Herzinsuffizienz**

Die Herzinsuffizienz-Therapie hat das Ziel, die Letalität zu senken, die Progression einer bestehenden kardialen Funktionsstörung bereits im asymptomatischen Stadium zu vermeiden bzw. zu verlangsamen, die Symptome und damit die Lebensqualität der Patienten zu verbessern, die Hospitalisationsrate zu vermindern und hämodynamische Parameter zu verbessern. Hierzu stehen medikamentöse, nicht-medikamentöse, operative sowie mechanische therapeutische Maßnahmen zur Verfügung (Remme et al., 2001). Liegt eine behebbare Herzinsuffizienzursache (z.B. Myokardischämie, Herzklappenfehler) vor, ist die kausale Therapie (operativ, katheterinterventionell, medikamentös) vordringlich (Hoppe et al., 1998).

Die medikamentöse Therapie der Herzinsuffizienz ist in jedem Falle durch nicht-medikamentöse Maßnahmen zu ergänzen. Hierzu zählt die Reduktion von Übergewicht, Risikofaktoren für eine koronare Herzerkrankung, des Kochsalzkonsums sowie in schweren Fällen die Limitierung der Trinkmenge (Osterziel et al., 2000). Bettruhe führt bei dekompensierten Patienten zu schneller Besserung, bei stabiler Herzinsuffizienz hingegen körperliche Bewegung (Hambrecht et al., 1998).

Die medikamentöse Therapie wird stadiengerecht und symptombezogen

durchgeführt. Zur Basistherapie gehören Digitalis, Diuretika und ACE-Hemmer (Gheorghiade et al., 1998) und seit kurzer Zeit auch die  $\beta$ -Rezeptorenblocker.

Digitalis wirken positiv inotrop, senken die Herzfrequenz und vermindern eine neurohumorale Aktivierung in der Herzinsuffizienz (Gheorghiade et al., 1995). Diuretika sind bei jeder Herzinsuffizienz mit Zeichen einer Flüssigkeitsretention (z.B. Ödeme, Lungenstauung) indiziert (Remme et al., 2001). In kontrollierten Studien konnte belegt werden, dass additiv zu einer ACE-Hemmer-Basismedikation im NYHA-Stadium II-IV eine vorsichtig eingeleitete  $\beta$ -Blocker-Therapie sicher ist und zu einer Verbesserung der linksventrikulären Pumpfunktion führt (CIBIS-II Investigators, 1999; Packer et al., 2001).

ACE-Hemmer wurden ursprünglich als Therapeutika des Bluthochdrucks entwickelt. Seit der initialen Applikation wurden jedoch einige zusätzliche klinische Indikationen festgestellt (Brown et al., 1998).

Die einzelnen ACE-Inhibitoren unterscheiden sich in der chemischen Struktur ihres aktiven Zentrums, ihrer Potenz, ihrer Bioverfügbarkeit, ihrer Plasma-Halbwertszeit, ihren Eliminationswegen, ihrer Affinität zu gewebsständigem ACE und ob sie als Prodrug verabreicht werden (Brown et al., 1998).

Ihr Wirkmechanismus besteht darin, dass sie das Angiotensin-Konversions-Enzym (ACE), das die Umwandlung von Angiotensin I in Angiotensin II katalysiert, kompetitiv hemmen. Gleichzeitig wird durch dieses Enzym der Abbau des lokalen vasodilatatorischen Bradykinin gehemmt und die Prostazyklinsynthese stimuliert (Erdos, 1977). Eine Hemmung des Enzyms beinhaltet daher eine doppelte Wirkung, nämlich die Abschwächung der Wirkung des Vasokonstriktors Angiotensin II und die Verstärkung der Wirkung des Vasodilatators Bradykinin. Somit ergibt sich die Blutdrucksenkung und konsekutiv die Senkung der Vor- und Nachlast des Herzens als Hauptwirkung der ACE-Hemmer. Hieraus ergibt sich letztendlich eine Erhöhung der kardialen Auswurffraktion und Leistung ohne einen Anstieg der Herzfrequenz (Brown et al., 1998). Neben diesen humoralen Wirkungen hat sich in den letzten Jahren eine Wirkung auf die gewebsständigen Renin-Angiotensin-Systeme bestätigt. Diese spielen eine wichtige kausale Rolle für den Prozess des Remodelling nach Myokardinfarkt, bei ventrikulärer Hypertrophie und auch für die Progression der

Herzinsuffizienz (Dzau et al., 1994).

Seit 1987 wurde die Wirksamkeit der ACE-Hemmer in zahlreichen großen, randomisierten und Plazebo-kontrollierten Studien belegt. In der CONSENSUS I Studie beispielsweise konnte erstmals neben einer symptomatischen Besserung nachgewiesen werden, dass die Progression der schweren Herzinsuffizienz zu einer terminalen Herzinsuffizienz durch Enalapril signifikant vermindert und damit die Prognose verbessert werden kann (CONSENSUS Study Group, 1987). In zwei weiteren Studien mit Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (SOLVD) zeigten sich signifikante Abnahmen der Sterblichkeit von 16% und 8% ab (SOLVD Investigators, 1991 u. 1992). Auch bei Patienten mit Zeichen der Herzinsuffizienz nach Myokardinfarkt konnte sowohl in der SAVE-Studie durch die Behandlung mit Captopril eine signifikante Reduktion der Mortalität von 19% (Osterziel et al., 2000), als auch in der AIRE-Studie durch die Gabe von Ramipril eine hochsignifikante Reduktion von 27% erzielt werden (AIRE Investigators, 1993).

Hieraus wird ersichtlich, dass die vorteilhaften kardiovaskulären und renalen Effekte der ACE-Inhibitoren weit mehr erzielen, als die ursprüngliche Indikation der Blutdrucksenkung.

Trotz dieser medikamentösen Therapie ist die Mortalität immer noch sehr hoch. Daher muss weiter untersucht werden, wie z.B. ACE-Hemmer als Standardtherapeutikum in Kombination mit anderen, auch neuen Therapeutika der Herzinsuffizienz agieren bzw. interagieren.

## **2.4 Natrium-Protonen-Austauscher**

Die Regulation des intrazellulären pH im kardiovaskulären System ist ein wesentlicher Prozess der zellulären Homöostase. An dieser pH-Kontrolle ist ein Transporter in der Myokardzellmembran wesentlich beteiligt, nämlich der Natrium-Protonen-Austauscher (NHE).

Sardet und Pouyssegur gelang es 1989, die Struktur und die Expression des Austauschers eingehend zu untersuchen und zu klonieren (Sardet et al., 1989). Derzeit sind sechs NHE-Isoformen identifiziert (NHE1-NHE6), die strukturell und funktionell betrachtet ähnlich sind, aber unterschiedliche Gewebeverteilung und z.T. unterschiedliche pharmakologische Eigenschaften zeigen. Der

vorherrschende Subtyp im Kardiomyozyten ist NHE1 (Karmazyn et al., 1999). Dieser ist ein Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von etwa 110 kDa (Karmazyn, 2001). NHE1 ist vorwiegend in der Region zwischen atrialen und ventrikulären Kardiomyozyten lokalisiert, wo er in die Plasmamembran integriert ist (Petrecca et al., 1999).

Neben seiner Hauptaufgabe in der pH-Regulation der Zelle spielt der Austauscher auch eine Rolle für den Natriumeinstrom und wirkt aktiv an der osmotischen Regulation des Zellvolumens mit. Hierzu werden Protonen im Austausch gegen Natriumionen im Verhältnis 1:1 herausgeschleust, womit der Prozess elektroneutral gehalten wird (Aronson, 1985). Die Aktivierung des Austauschers erfolgt nicht nur pH-bedingt, sondern auch über parakrine und autokrine Faktoren wie Endothelin-1 (Khandoudi et al., 1994), Angiotensin II (Matsui et al., 1995),  $\alpha_1$ -adrenerge Agonisten (Wallert et al., 1992), Thrombin (Yasutake et al., 1996) und Wachstumshormone (Wakabayashi et al., 1992). Während die Aktivität des Austauschers unter physiologischen pH-Bedingungen (7,1-7,3) eher unbedeutend ist, kommt es zu einer sehr schnellen Aktivierung bei fallendem pH-Wert (Karmazyn et al., 2001). Seine maximale Aktivität erreicht der Austauscher bei einem intrazellulären pH von 6,5 (Fliegel, 2001).

#### **2.4.1 Natrium-Protonen-Austauscher während Ischämie und Reperfusion**

Während der Ischämie kommt es sowohl intrazellulär als auch extrazellulär zu einem pH-Abfall. Die intrazelluläre Azidose ist eine Folge des anaeroben Metabolismus und des ATP Katabolismus während der Ischämie. Der niedrige intrazelluläre pH führt konsekutiv zu einer schnellen Aktivierung des NHE1, welcher daraufhin  $H^+$ -Ionen aus der Zelle heraus- und dafür  $Na^+$ -Ionen in die Zelle hineinschleust. Obwohl Lazdunski et al. annahmen, dass der niedrige  $pH_i$  den Austauscher hemmt (Lazdunski et al., 1985), konnten Vaughan-Jones et al. doch eine ausreichende NHE1-Aktivität zeigen (Vaughan-Jones et al., 1990). Zusätzlich werden aber andere Mechanismen wie permanent aktive Natriumkanäle für den  $Na^+$ -Anstieg intrazellulär diskutiert (Haigney et al., 1994). Dies führt nun im Folgenden zu einer Akkumulation von intrazellulärem Natrium. Zusätzlich nimmt auch die Fähigkeit der Zelle Natrium

herauszutransportieren ab, da zum einen die extrazelluläre Akkumulation von  $H^+$  zu einer Hemmung der  $Na^+/K^+$ -ATPase führt (Karmazyn et al., 2001), zum anderen kommt es zu einer Verringerung des zytoplasmatischen ATP- und somit Energiegehalts (Goss et al., 1994). Der erhöhte intrazelluläre Gehalt an  $Na^+$  kann dann zur Aktivierung des  $Na^+/Ca^{2+}$ -Austauschers führen, was einen Anstieg der  $Ca^{2+}$ -Konzentration intrazellulär zur Folge hat (Siffert et al., 1989). Die Konsequenzen des sog. „Kalzium-overload“ können Zellnekrosen, Hyperkontraktilität, Arrhythmien und Zelltod sein.

Die Aktivität des NHE1 nimmt bei extrazellulärer Azidose aufgrund der extrazellulären  $H^+$ -Akkumulation, und dem damit einhergehenden verringerten transmembranären Gradienten ab. Bei einem  $pH_e$  von 6,3, welcher innerhalb von 10-15 Minuten im ischämischen Myokard erreicht sein kann, scheint der Austauscher schließlich inaktiv zu sein (Allen et al., 2000).

Während der Reperfusion wird der extrazelluläre pH durch das schnelle Auswaschen der extrazellulären  $H^+$ -Ionen und der Metaboliten schnell normalisiert. Dieser weitgehend normalisierte extrazelluläre pH steht dem noch immer niedrigen intrazellulären pH gegenüber, was einen großen  $H^+$ -Konzentrationsgradienten durch die Zellmembran mit sich bringt. Inwiefern zu diesem Zeitpunkt NHE1 aktiv ist, wird kontrovers diskutiert. Lazdunski et al. behaupten, dass der  $H^+$ -Gradient NHE1 massiv stimuliert, was zu einem schnellen intrazellulären  $Na^+$ -Anstieg führt. Dies wiederum würde, wie oben beschrieben, den  $Na^+/Ca^{2+}$ -Austauscher aktivieren, was abermals zu einem „Kalzium-overload“ mit seinen schädlichen Folgen führen würde (Lazdunski et al., 1985). Wäre diese Hypothese korrekt, sollte die Gabe von NHE1-Inhibitoren zu Reperfusionsbeginn den Kalzium-overload reduzieren und protektiv wirken. Hierzu gibt es jedoch kontroverse Studien, die zu diesem Zeitpunkt Protektion durch die Inhibition nur teilweise oder auch gar nicht zeigen (Murphy et al., 1999). Im Gegensatz zu Lazdunski konnten die meisten Autoren in der Reperfusion ein Absinken der  $Na^+$ -Konzentration intrazellulär feststellen (Pike et al., 1993; Liu et al., 1997; Imahashi et al., 1999). Imahashi et al. spekulieren, dass ein Natrium-Influx zwar in jedem Fall durch den NHE1 stattfindet, dieser jedoch wesentlich geringer als der Natrium-Efflux ist. Dieser Efflux findet

hauptsächlich über den  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauscher statt (Imahashi et al., 1999), aber auch über die  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase (Van Emous et al., 1998).

Auch wenn die Mehrzahl der Untersuchenden ein Absinken der Natriumkonzentration intrazellulär in der Reperfusion zeigte, ist allgemein gültig, dass der  $\text{Na}^+$ -Influx während Ischämie auch noch einen wesentlichen Faktor zu Reperfusionsbeginn darstellt. Auszuschließen ist ebensowenig, dass zumindest in den ersten Sekunden der Reperfusion ein starker  $\text{Na}^+$ -Influx aufgrund des  $\text{H}^+$ -Gradienten stattfindet (Murphy et al., 1999). Imahashi et al. zeigten, dass ein Verlangsamen des  $\text{Na}^+$ -Efflux durch Reduktion von  $\text{Ca}^{2+}$  die postischämische kontraktile Funktion verbessert, hingegen ein Verstärken des  $\text{Na}^+$ -Efflux durch Erhöhen der  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration die Funktion verschlechtert (Imahashi et al., 1999). Somit ergibt sich, dass vor allem während Ischämie und der initialen Reperfusionsphase eine erhöhte  $\text{Na}^+$ -Konzentration wie bereits beschrieben über einen Austausch mit Kalzium zu einem erhöhten  $\text{Ca}^{2+}$ -Gehalt in der Zelle führt, welcher u.a. verantwortlich für Arrhythmien, Hyperkontraktilität, Nekrosen und Zellschäden ist.

#### **2.4.2 Natrium-Protonen-Austauscher in der Herzinsuffizienz**

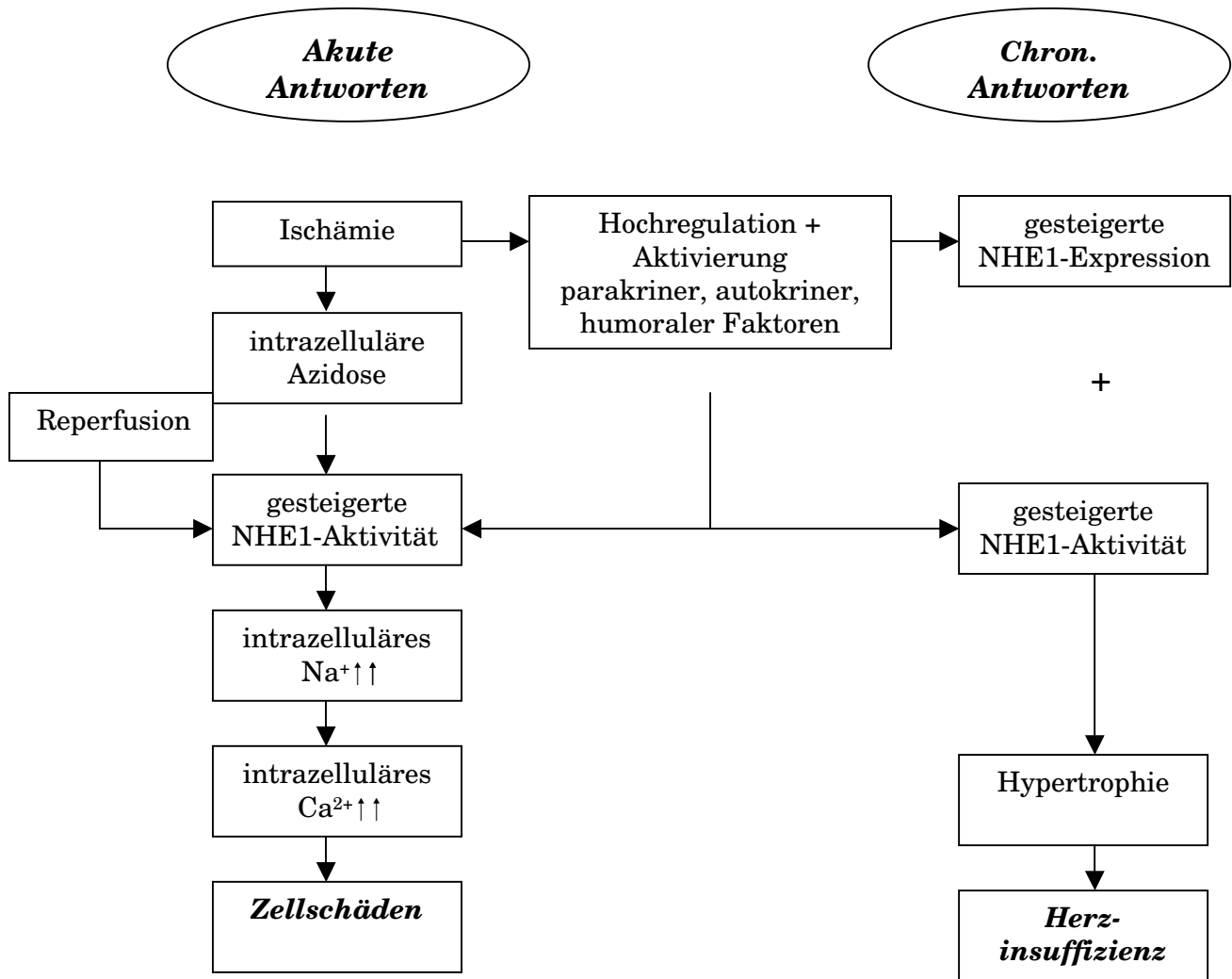
Inzwischen konnte in verschiedenen Studien (Yoshida et al., 2000; Camilion de Hurtado et al.; Jandeleit-Dahm et al., 2000) gezeigt werden, dass der NHE1 auch in die Entwicklung der kardialen Hypertrophie und des Remodellings involviert bzw. im insuffizienten Myokard hochreguliert ist und somit zum Prozess der Herzinsuffizienz beiträgt (Karmazyn, 2001).

Verschiedene sog. 'hypertrophische Faktoren' wie  $\alpha_1$ -adrenerge Agonisten (Yokoyama et al., 1998), Endothelin-1 (Khandoudi et al., 1994), Angiotensin II (Gunasegaram et al., 1999) und Thrombin (Glembotski et al., 1993) werden kausal durch erhöhte Arbeitslast und Dehnungsreize des insuffizienten Herzens aktiviert (Matsui et al., 1995). Sie steigern im Folgenden die Affinität des Antiporters gegenüber  $\text{H}^+$ -Ionen und somit dessen Aktivität (Cingolani et al., 1998) durch vermehrte Phosphorylierung des Proteins über sog. 'mitogen activated protein kinases' (MAPKs) (Takewaki et al., 1995). Dies führt zu der Annahme, dass NHE1 der nachgeschaltete Mediator für zumindest einige der genannten Faktoren ist und zur zellulären Hypertrophie beiträgt. Konsekutiv

kommt es durch die gesteigerte Aktivität des NHE1 zu einem intrazellulären Anstieg von Natrium, gefolgt von dem bereits unter 2.4.1 beschriebenen Effekt des  $\text{Ca}^{2+}$ -Anstiegs. Dieser  $\text{Ca}^{2+}$ -Anstieg wird grundsätzlich als Signal für Zellwachstum erkannt (Marban et al., 1990). Durch erhöhte Kalziumkonzentrationen können ebenso MAPKs aktiviert werden (Eguchi et al., 1996), die dann, wie bereits erwähnt, die Aktivität des NHE1 weiterhin steigern. Ferner wird Natrium per se ein verstärkender Effekt auf die Proteinsynthese, sowie ein reduzierender Effekt auf den Proteinabbau zugeschrieben, was zusätzlich den Hypertrophieprozess unterstützt (Gu et al., 1998). Schließlich beschleunigt auch eine Erhöhung des intrazellulären pH um nur 0,1 die Proteinsynthese um 40% (Fuller et al., 1990).

Die Ergebnisse dieser genannten und anderer Studien deuten daraufhin, dass die linksventrikuläre Hypertrophie post Infarkt zumindest teilweise durch die erhöhte Aktivität des NHE1 bedingt ist. Dies wird unterstützt durch Studien in verschiedenen Tierspezies, die eine eindeutige Reduktion der kardialen Hypertrophie und der konsekutiven Herzinsuffizienz nach NHE1-Inhibition zeigen.

Abb.1 zeigt eine Darstellung der potentiellen Rolle des  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Austauschers während akuter und chronischer Postinfarkt-Situation.



**Abb.1:** Darstellung der potentiellen Rolle des Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>-Austauschers während akuter und chronischer Postinfarkt-Situation



### 2.4.3 Natrium-Protonen-Austauscher-Inhibitoren

Die zuerst entdeckten Hemmstoffe des  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Austauschers gehören zur Familie der Amiloride. Diese sind seit 1971 bekannt als potente Hemmer des NHE im distalen Tubulus der Niere und werden als Kalium-sparende Diuretika eingesetzt (Kleyman et al., 1988). Da diese Inhibitoren jedoch nicht nur NHE1 hemmen, haben sie besonders bei hoher Dosierung auch unspezifische Wirkungen (Mentzer et al., 2003). Dies hat zur Entwicklung neuer Benzoylguanidin-Verbindungen geführt, die speziell gegen NHE1 gerichtet sind. Die erste solche Verbindung war 3-Methylsulfonyl-4-piperidinobenzoyl-guanidin (Hoe 694), wonach 4-Isopropyl-3-methylsulphonylbenzoylguanidin methansulphonat (Hoe 642, Cariporide) folgte (Karmazyn et al., 2001). Diese Verbindungen sind in therapeutischen Dosierungen ausschließlich gegen die NHE1-Isoform gerichtet und haben sehr geringe bis keine Effekte auf andere Isoformen (Mentzer et al., 2003).

Der Interaktionsmechanismus zwischen NHE1-Inhibitoren und dem Austauscher ist nicht genau bekannt, jedoch ist sicher, dass es zu einer Bindung des Inhibitors an lipophile transmembranäre Einheiten kommt (Karmazyn et al., 2001). Die Hemmung des Antiporters hat, vor allem wenn verabreicht vor Ischämie, eine merkliche Reduktion des bereits unter 2.4.1 beschriebenen  $\text{Na}^+$ - und  $\text{Ca}^{2+}$ -overloads zur Folge (Pike et al., 1993; Hendrix et al., 1994). Parallel kommt es zu einer Reduktion des ATP-Verbrauchs, des anaeroben Metabolismus sowie der Laktatbildung. Die Speicher von energiereichen Phosphaten und Glycogen bleiben erhalten (Scholz et al., 1993; Scholz et al., 1995). Zusätzlich konnten verschiedene Studien eine Reduktion der Infarktgröße zeigen. Arrhythmien, Hyperkontraktilität und Nekrosen mit einhergehendem Funktionsverlust des ischämischen Gewebes werden dadurch merklich verringert. Ein gewisser Schutz wird auch noch bei Anwesenheit des Inhibitors während Reperfusion gesehen, wo ein zusätzlicher  $\text{Na}^+$ - und  $\text{Ca}^{2+}$ -overload in der frühen Phase verhindert wird (Scholz et al., 1999). Diesbezüglich rangieren jedoch die Ergebnisse diverser Studien von totaler Protektion (du Toit et al., 1993; Kaplan et al., 1995; Meyrs et al., 1996) bis hin zu keinen Effekten (du Toit et al., 1993; Meyrs et al., 1995; Bugge et al., 1995).

Zusätzlich zu der bereits genannten Protektion während Ischämie und

Reperfusion kommen immer eindringlichere Beweise auf, dass eine NHE1-Inhibition auch andere positive Effekte im postinfarzierten Myokard in Bezug auf Hypertrophieentwicklung, den Remodelling-Prozess und eine konsekutive Herzinsuffizienz bietet (Karmazyn et al., 2001). Die genauen Mechanismen diesbezüglich sind noch nicht genau erschlossen, jedoch ist gesichert, dass eine NHE1-Inhibition die 'hypertrophischen Antworten' aufgrund der verschiedenen, bereits o.a. Stimuli blockiert. Ebenso im Zusammenhang mit einer NHE1-Inhibition steht die Abnahme der intrazellulären  $\text{Na}^+$ - und  $\text{Ca}^{2+}$ -Überladung, was Effekte wie eine gesteigerte Proteinsynthese durch erhöhte  $\text{Na}^+$ -Konzentrationen hemmt (Karmazyn et al., 2001).

Somit stellt der  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Austauscher einen wichtigen Angriffspunkt für die pharmakologische Intervention zum Schutz des Myokards vor dem Schaden nicht nur während Ischämie und Reperfusion, aber auch in der Entwicklung einer Herzinsuffizienz dar.

NHE1-Inhibitoren wurden bisher nicht nur in einer Vielfalt von experimentellen Modellen und Tierspezies, sondern auch in klinischen Studien untersucht. Der GUARDIAN Trial (GUARd During Ischemia Against Necrosis) war die erste groß angelegte Phase II/III-Studie, um die protektiven Effekte der NHE-Inhibition mit Cariporide am Menschen zu untersuchen. 11.590 Menschen mit akutem Koronarsyndrom, unabhängig welcher Genese, wurden als Risikopatienten für einen Myokardinfarkt in die Studie aufgenommen, deren Endpunkt Myokardinfarkt bzw. Mortalität war. Weiterhin wurden die Patienten in die Gruppen instabile Angina pectoris/Nicht-Q-Wellen-Infarkt, PTCA (percutaneous transluminal coronary angioplasty; Ballondilatation) und CABG (coronary artery bypass graft; Bypass-Operation) unterteilt (Erhardt, 1999). Während keine signifikanten Unterschiede unter den einzelnen Gruppen und Dosierungen gezeigt werden konnten, ergab sich eine Reduktion der Todes- und Myokardinfarktrate von -24,7% bei Patienten, die die höchste Dosierung von Cariporide erhalten (120 mg i.v. alle 8 Std.) und sich einer Bypass-Operation unterzogen hatten (Weber et al., 2002). Aufgrund dieses Ergebnisses wurde eine weitere Studie initiiert, in welcher die Subgruppe der CABG-Patienten herausgegriffen und einer Cariporide-Medikation unterzogen wurde. Die Ergebnisse des EXPEDITION Trial (the sodium-hydrogen EXchange inhibition to

Prevent coronary Events in acute cardiac conDITIONs) (Bolli, 2003) sind derzeit noch nicht publiziert.

## **2.5 Zielsetzung der Arbeit**

Die steigende Anzahl der Patienten, die einen Myokardinfarkt durch bessere Therapiemöglichkeiten überleben, sowie eine tendenziell älter werdende Population sind Hauptfaktoren für die stete Zunahme der Herzinsuffizienzrate. Die Lebenserwartung der Patienten mit symptomatischer Herzinsuffizienz ist trotz Therapie mit Digitalis, ACE-Hemmern,  $\beta$ -Blockern und Diuretika erheblich eingeschränkt. Daher ist es von großer Bedeutung, einerseits die durch Myokardinfarkt und Reperfusionstherapie entstehenden Schäden möglichst gering zu halten, andererseits die zur Herzinsuffizienz beitragende Hypertrophie zu beeinflussen. Des weiteren gilt es, zusätzliche Therapiemöglichkeiten der Herzinsuffizienz per se zu finden, um die Standardtherapie zu ergänzen bzw. zu verbessern.

### **2.5.1 Vergleich der Bolusgabe eines NHE1-Inhibitors vor Ischämie/Reperfusion mit zusätzlicher NHE1-Inhibitor-Gabe während langer Reperfusion**

Sowohl in zahlreichen tierexperimentellen Untersuchungen als auch in klinischen Studien konnte gezeigt werden, dass sich durch Inhibition des NHE1 ein erheblicher Teil der durch Ischämie und Reperfusion entstehenden Schäden vermeiden oder wesentlich hinauszögern lässt. Jedoch wurden die kardioprotektiven Effekte im Tierexperiment lediglich während Ischämie und früher Reperusionsphase (1-48 Std.) untersucht. Die Entwicklung nach mehreren Wochen der Reperfusion wurde nicht beurteilt, wie es z.B. in klinischen Studien durchgeführt wird (EXPEDITION-Trial).

Somit wurden in dieser Studie Tiere in die Gruppen nichtoperierte Kontrolltiere, Ischämie/Reperfusion mit Bolusgabe Cariporide vor Ischämie und Ischämie/Reperfusion mit Bolusgabe und Futtergabe Cariporide während vierwöchiger Reperfusion eingeteilt. Es wurde zum einen die kardiale Funktion und Morphologie der nicht-operierten Tiere mit den operierten, aber vier Wochen reperfundierten Tieren verglichen. Zum anderen wurde der Effekt der

einmaligen Bolus-Gabe von Cariporide mit der zusätzlichen vierwöchigen Gabe via Futter verglichen.

### **2.5.2 NHE1-Inhibitor im direkten Vergleich zu einem ACE-Hemmer und als Zusatztherapie in der Behandlung der Herzinsuffizienz**

Die Gabe von ACE-Hemmern gilt als Standard-Therapie in der Behandlung der Herzinsuffizienz. Da jedoch die Entwicklung der Herzinsuffizienz ein Prozess aus vielen pathologischen Vorgängen ist, geht die Suche nach neuen pharmakologischen Interventionsmöglichkeiten fortwährend weiter.

Eine Vielzahl tierexperimenteller Studien zeigt, dass die chronische NHE1-Inhibition eine Verringerung der Hypertrophie sowie des Remodellings während der Entwicklung der Herzinsuffizienz erzielt. Um diese positiven Effekte in eine bestehende Standardtherapie zu integrieren, wurde in dieser Studie der NHE1-Inhibitor Cariporide mit dem ACE-Hemmer Ramipril sowohl in direkten Vergleich gestellt, als auch in Kombination mit diesem untersucht.

Hierzu wurden Tiere in eine Gruppe der Scheinoperierten, eine koronarligierte Gruppe, eine koronarligierte ramiprilbehandelte, eine koronarligierte cariporidebehandelte und eine koronarligierte ramipril- und cariporidebehandelte Gruppe eingeteilt. Hierbei wurden ebenfalls die Effekte auf die kardiale Funktion sowie die Morphologie untersucht.

### 3. Material und Methoden

#### 3.1 Tiere und deren Haltungsbedingungen

Für die Durchführung dieser Versuche wurden männliche Kaninchen der Rasse Weiße Neuseeländer aus der Versuchstierzucht Harlan Winkelmann, USA, verwendet. Die Tiere wogen zu Versuchsbeginn 2,5-3,0 kg.

Sie wurden einzeln in normierten Käfigen ohne Einstreu gehalten. Es wurde Standardfutter (Fa. Altromin, Lage) gegeben und Wasser ad libitum angeboten. Im Rahmen der Studien wurde zum Teil abweichendes Futter und Trinkwasser verwendet (siehe 3.3.3 und 3.3.4). Der Tag-Nacht-Zyklus war auf 12 Stunden eingestellt, wobei die Tagphase von 06.00 Uhr bis 18.00 Uhr andauerte. Die Raumtemperatur war auf 19-22°C und die relative Luftfeuchtigkeit auf 50-55% eingestellt.

#### 3.2 Verwendete Substanzen

##### 3.2.1 Ramipril

Ramipril zählt zu der Gruppe der ACE-Hemmer und ist ein Produkt der Fa. Aventis. Die chemische Bezeichnung lautet (2S, 3aS, 6aS)-1((S)-N-((S)-1-carboxy-3-phenylpropyl)-alanyl)-octahydrocyclopenta(b)pyrrol-2-carbonsäure-1-ethylester. Die chemische Summenformel ist  $C_{23}H_{32}N_2O_5$  und das Molekulargewicht beträgt 416,5 g/mol.

Ramipril ist ein Hemmstoff des Angiotensin-Konversions-Enzyms, welches die Umwandlung des inaktiven Angiotensin I in das biologisch aktive Angiotensin II katalysiert. Ramipril zählt zu den „Prodrugs“, deren eigentliche Wirkform Ramiprilat durch Hydrolyse in der Leber entsteht.

Ramiprilat ist ein langsam bindender, hochaffiner Inhibitor, dessen Hemmung kompetitiv ist.

Die Hemmung erfolgt durch Bindung mit einer Carboxylgruppe an das Zink im aktiven Zentrum des Enzyms. Dazu bindet der Inhibitor zunächst rasch an das Enzym, um einen initialen Komplex zu bilden. Dieser Enzym-Inhibitor-Komplex

lagert sich durch Isomerisierung langsam um und bildet so einen stabilen Komplex, welcher nur sehr langsam wieder dissoziiert.

In der klinischen Anwendung ist es für die Indikationen der essentiellen Hypertonie und gering bis mäßig ausgeprägten Herzinsuffizienz nach akutem Myokardinfarkt zugelassen.

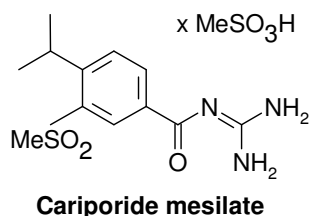
Die Gabe am Patienten erfolgt oral. Die Resorption von Ramipril findet schnell statt und wird durch gleichzeitige Nahrungsaufnahme nicht beeinflusst. Die Substanz wird fast vollständig metabolisiert und größtenteils renal eliminiert. Seine ausreichend lange Halbwertszeit erlaubt eine einmal tägliche Gabe am Patienten.

### 3.2.2 Cariporide (Hoe 642)

Der NHE1-Inhibitor Cariporide ist ein Produkt der Fa. Aventis. Die chemische Bezeichnung lautet 4-isopropyl-3-methylsulphonylbenzoyl-guanidinmethansulphonat. Die chemische Summenformel ist  $C_{13}H_{21}N_3O_6S_2$  und das Molekulargewicht beträgt 379,46 g/l.

Cariporide ist ein Hemmstoff des  $Na^+$ - $H^+$ -Austauschers NHE1, welcher der vorherrschende Subtyp in der myokardialen Plasmamembran ist.

In der momentanen klinischen Phase erfolgt die Gabe der Substanz i.v., und sie wird renal wieder ausgeschieden. Ihre relativ kurze Halbwertszeit bei Kaninchen und Ratte (2-4 Std.) erfordert bei chronischer Anwendung eine Gabe über das Futter.



### 3.3 Untersuchungen

#### 3.3.1 Allgemeine Versuchsprotokolle

##### *Ischämie/Reperfusionstudie:*

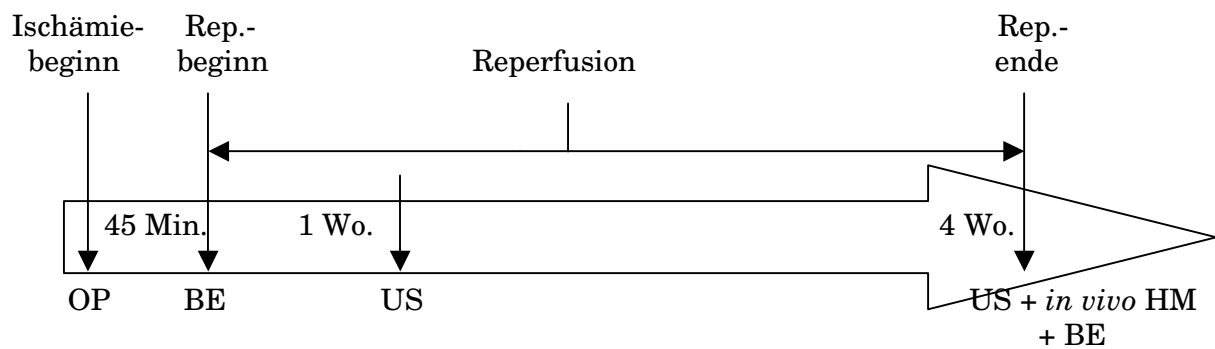
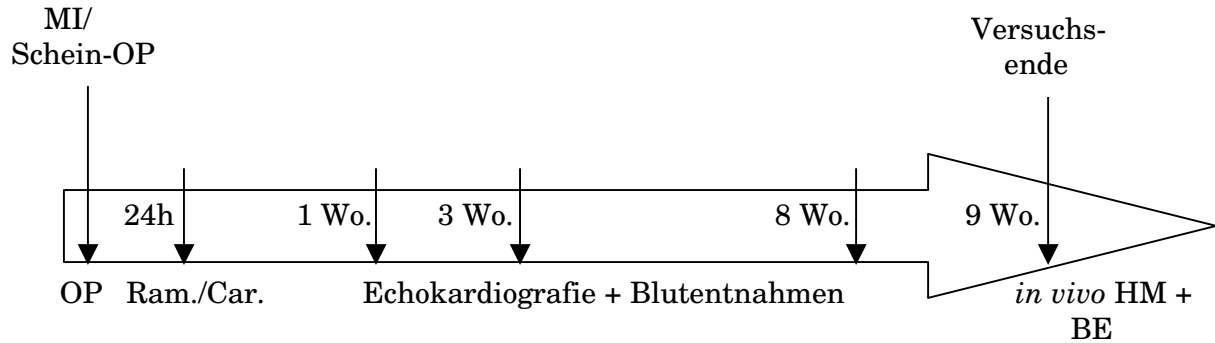


Abb.2: Versuchsprotokoll der Ischämie/Reperfusionstudie mit Zeitpunkten der Versuchsintervalle, Blutentnahmen (BE), Ultraschalluntersuchungen (US) und hämodynamischen Messungen (HM)

### ***Herzinsuffizienzstudie:***



**Abb. 3:** Versuchsprotokoll der Herzinsuffizienzstudie mit Zeitpunkten der Versuchsintervalle, Blutentnahmen (BE), Echokardiografie und hämodynamischen Messungen (HM); Myokardinfarkt (MI); Ramipril-Gabe (Ram.), Cariporide-Gabe (Car.)

### **3.3.2 Gruppenzusammensetzungen**

Für die *Ischämie/Reperfusionstudie* wurden insgesamt 30 männliche Kaninchen eingesetzt. Sie wurden je nach Behandlung in vier Gruppen eingeteilt (Kontrolle n = 5, Ischämie/Reperfusion (I/R) n = 8, Ischämie/Reperfusion Bolus Cariporide n = 8, Ischämie/Reperfusion Bolus + Futter Cariporide n = 9).

Für die *Herzinsuffizienzstudie* wurden insgesamt 49 männliche Kaninchen verwendet. Sie wurden ebenfalls je nach Behandlung in fünf Gruppen eingeteilt (Scheinoperierte n = 10, Myokardinfarkt (MI)/Kontrolle n = 9, Myokardinfarkt/Ramipril n = 11, Myokardinfarkt/Cariporide n = 10, Myokardinfarkt/Cariporide + Ramipril n = 9).



### **3.3.3 Ischämie/Reperfusionstudie**

#### **3.3.3.1 Ischämie/Reperfusions-OP**

##### *a) Chirurgisches Instrumentarium*

1 Nadelhalter nach Hegar-Mayo, 1 Nadelhalter nach Mathieu, 1 Einmalskalpellklinge, 1 Wundspreizer nach Weitlaner, 1 chirurgische Pinzette, 1 anatomische Pinzette, 1 feine Schere, 2 Präparierscheren, 1 Arterienklemme.

Das Operationsbesteck wurde von der Fa. Aesculap, Tuttlingen bezogen.

##### *b) Nahtmaterial*

Vicryl Stärke 0 geflochten für Muskelnähte

Mersilene Stärke 0 geflochten für Hautnaht

Prolene Stärke 5/0 monofil für Gefäßligatur

Das Nahtmaterial wurde von der Fa. Ethicon, Norderstedt bezogen.

Die Tiere wurden zur Intubation zunächst ultrakurz narkotisiert. Hierzu wurde ihnen Propofol 1%ig (Disoprivan®, AstraZeneca, Caponoga, Italien) in einer Dosierung von 20-30 mg/kg Körpergewicht i.v. verabreicht. Zusätzlich wurde ihnen 0,02 mg/kg KG Fentanyl (Fentanyl-Janssen, JANSSEN-CILAG GmbH, Neuss) i.m. injiziert.

Mit Narkoseeintritt wurden die Tiere auf einem Kleintieroperationstisch (Heiland Vet GmbH, Hamburg) in Rückenlage gebracht und mit einem Trachealtubus Gr. 3,0 (Willy Rüscher AG, Kernen) intubiert. Danach wurden sie in die rechte Seitenlage befördert, um sie an eine Atempumpe (NEMI Scientific, Medway, USA) anzuschließen. Hierüber wurden sie mit reinem Sauerstoff und 5% Sevofluran (SEVOrane®, Abbott GmbH, Wiesbaden), was ca. 1,5 MAC (minimale alveoläre Narkotikumskonzentration bei 1 atm) entspricht, beatmet. Die Atemzüge wurden je nach Größe des Kaninchens auf 28-33 Züge/Min. und das Atemvolumen auf 25-30 ml festgelegt. Während der gesamten Operation wurden die Atemgase mittels eines Atemgasmonitors (5250 RGM, Datex-Ohmeda, Louisville, USA) überwacht. Der pO<sub>2</sub> lag dabei stets zwischen 80-100 mmHg, der pCO<sub>2</sub> zwischen 35-42 mmHg.

Zunächst wurde das Fell des Tieres im Bereich der folgenden linksseitigen Thorakotomie geschoren, um danach die Haut zu reinigen und mittels eines Antiseptikums zu desinfizieren. Anschließend wurde mit einem Skalpell ein etwa 5 cm langer Hautschnitt ca. 1 cm caudal des Ellbogengelenks nach dorsoventral gesetzt. Die oberflächliche und tiefe Pektoralismuskulatur wurde mit einem Kauter durchtrennt, um anschließend die Brusthöhle zu eröffnen. Nachdem die Rippen mit einem Wundspreizer auseinander gespreizt wurden, erfolgte die Eröffnung des Perikard mittels einer feinen Schere. Der linke Lungenflügel wurde mit einem Tupfer aus dem Operationsbereich geschoben.

Nun wurde bei zufällig ausgewählten Tieren Cariporide 3 mg/kg KG als Bolus i.v. verabreicht, die Placebo-Gruppe erhielt anstattdessen NaCl in gleicher Menge als Bolus. Zur Einleitung der Ischämie wurde 5 Min. später eine vorläufige Ligatur um den absteigenden Ast der A. coronaria sinistra ca. 5 mm distal des Vorhofes gesetzt. Ein eventuell auftretendes Kammerflimmern wurde per Defibrillation (bei 2 Joule) behoben. 45 Min. nach Ischämiebeginn wurde die Ligatur wieder gelöst und so die Reperfusion eingeleitet. Danach wurde der die Lunge zurückhaltende Tupfer herausgenommen, um diese vor Verschließen des Thorax zwei Atemzüge lang zu überblähen. Es konnte nun der Thorax durch Aneinanderfügen der dritten und vierten Rippe mittels zweier Knopfnähte mit resorbierbarem Faden verschlossen werden. Ebenso wurde dann die Pektoralismuskulatur adaptiert. Schließlich wurde die Haut mittels eines nicht resorbierbaren Fadens per Knopfhefte vernäht.

Die Inhalationsnarkose wurde dann abgestellt und die Tiere bei vorhandenem Schluckreflex extubiert.

Zur Schmerzbehandlung wurde ihnen i.m. 20 mg/kg KG Novalgin (Hoechst Roussel Vet, Unterschleißheim) und zur antibiotischen Versorgung s.c. 15 mg/kg KG Terramycin (Pfizer, Karlsruhe) zwei Tage lang verabreicht. Die OP-Wunde wurde mit Mirfulan-Spray N (Merckle, Blaubeuren) versorgt und mit steriler Wundgaze abgedeckt. Bis zum Zeitpunkt des Fädenziehens zehn Tage p.op. wurden den Kaninchen speziell angefertigte Jacken (S&S Medizin Technik, Düsseldorf) angezogen, um ein vorzeitiges Entfernen der Fäden durch die Tiere selbst zu vermeiden.

Die Kaninchen, die zufällig für eine zusätzliche orale Behandlung mit Cariporide ausgesucht wurden, erhielten die Substanz 0,15%ig (= 20 mg/kg/d) über das Futter. Diese Behandlung erfolgte täglich und wurde bis zur abschließenden Untersuchung nach vier Wochen fortgeführt.

### **3.3.3.2 Bestimmung des Körpergewichts und Blutprobenentnahmen**

Die Gewichtsbestimmung und Blutentnahme fand am Tag der OP 15 Min. nach Reperfusionbeginn sowie vier Wochen p.op. statt. Das Blut wurde in EDTA-Plasmaröhrchen aufgefangen, diese wurden zentrifugiert und das Plasma abpipettiert. Bis zur späteren Messung der Creatinkinase am selben Tag wurde ein Röhrchen bei Raumtemperatur aufbewahrt, dasjenige zur proANP-Bestimmung tiefgefroren und am Ende der Versuchsreihe zur Messung gegeben.

### **3.3.3.3 Ck-Bestimmung, proANP-Bestimmung**

Die Creatinkinase (Ck) ist ein Leitenzym für die Diagnose von Schädigungen der Herz- und Skelettmuskulatur. Dabei kann von der Höhe des Ck-Anstiegs auf die Größe der Schädigung geschlossen werden (Thomson et al., 1995). Die Ck katalysiert in der Muskulatur und im Gehirn die Phosphorylierung von Creatin mittels ATP. Durch post-synthetische Veränderungen entstehen die drei dimeren, zytoplasmatischen Isoenzyme: Ck-MB (Myokardtyp), Ck-MM (Skelettmuskeltyp), Ck-BB (Hirntyp). Entscheidend für die Diagnose eines Herzinfarktes ist die Bestimmung des Ck-MB Werts, dessen Anstieg beim Menschen bereits 2-4 Std. nach dem Infarkt ereignis nachweisbar ist. Der Referenzbereich liegt bei Männern bei weniger als 160 IU/L, bei Frauen bei weniger als 200 IU/L.

Für die Messung wurde ein UV-Test (Roche, Mannheim) verwendet, der Ck quantitativ in Serum oder Plasma bestimmt.

Das atriale natriuretische Peptid ist ein Peptid, das in den Myozyten des Vorhofes als Prohormon synthetisiert und gespeichert wird. Hauptstimulus zur Freisetzung ist das Strecken der Myozytenfibrillen. Zu diesem Zeitpunkt wird das Prohormon in das biologisch aktive  $\alpha$ -ANP und den N-terminalen Teil von 98 Aminosäuren gespalten.  $\alpha$ -ANP bindet an spezifischen Rezeptoren, es hat eine

sehr kurze Halbwertszeit. Bis jetzt sind keine Rezeptoren für proANP bekannt, somit zirkuliert das Peptid länger und stellt so besser die Gesamtmenge des ausgeschütteten ANP dar.

Für die Messung wurde ein Sandwichenzymimmunoassay (BIOMEDICA Wien, Österreich) verwendet, der das Prohormon direkt in biologischen Flüssigkeiten misst.

### **3.3.3.4 Echokardiografie**

#### **3.3.3.4.1 Allgemeine Methodik**

Die Echokardiografie ist eine Ultraschalluntersuchung des Herzens zur nichtinvasiven Diagnostik kardiovaskulärer Krankheiten. Man kann sie unterteilen in M-Mode-Verfahren, zweidimensionale (2-D-) Echokardiografie, Spektral-Doppler, farbkodierten Doppler, Kontrastmittel- und Belastungs-Echokardiografie.

Ultraschall sind Schallwellen, die jenseits des menschlichen Hörbereichs, oberhalb von 20 kHz liegen. Es handelt sich um sogenannte longitudinale Schalldruckwellen, die das durchschallte Medium komprimieren und expandieren. Diese Ultraschallwellen werden durch Nutzung des inversen piezoelektrischen Effektes in bestimmten Kristallen erzeugt. Hierbei wird ein elektrisches Wechselfeld an das piezoelektrische Material angelegt, was zu einer mechanischen Verformung dessen führt. In der bildgebenden Ultraschalldiagnostik wird dazu ein Schallkopf verwendet, der aus bis zu 192 Piezoelementen besteht. Die Schallwellen werden im Körper des Patienten je nach Gewebeart und akustischer Impedanz absorbiert oder reflektiert. Der Schallkopf kann die reflektierten Schallwellen wiederum empfangen, wirkt also gleichzeitig als Schallsender und -empfänger. Da die Fortleitungsgeschwindigkeit in den Weichteilen fast konstant ist, besteht eine Proportionalität zwischen Laufzeit des Impulses und Distanz zwischen Schallkopf und reflektierender Fläche. Die reflektierten Schallwellen werden in elektrische Impulse verwandelt, verstärkt und auf einem Bildschirm dargestellt.

Die einfachste Form der Darstellung dieses Echosignals ist ein oszilloskopischer Punkt (A-Mode). Fügt man eine zeitliche Ablenkung hinzu erhält man das M-

Mode. Die M-Mode Echokardiografie erlaubt eine quantitative Aussage über Ventrikel- und Vorhofgröße, Wanddicke, Geschwindigkeit der Wandbewegungen, sowie Dimensionen der Aorta.

Im Gegensatz zum M-Mode-Verfahren beurteilt die 2D-Echokardiografie die Bewegungsabläufe der Herzstrukturen und erfasst relative Größenverhältnisse bzw. anatomische Besonderheiten. Hierzu wird der Kristall im Schallkopf mechanisch sektorförmig oder linear bewegt, um ein 2D-Bild zu erhalten.

Mit dem Verfahren der Doppler-Sonografie erhält man zusätzlich Informationen über die Strömungsrichtung, -geschwindigkeit und -stärke des Blutflusses. Unter dem Dopplereffekt versteht man die Veränderung der Frequenz eines Tonsignals bei relativer Bewegung von Tonquelle und Tonempfänger. Dopplersignale kommen durch Reflexionen von Ultraschall an bewegten Strukturen, v.a. an roten Blutkörperchen zustande. Beim gepulsten Dopplerverfahren werden Signale abwechselnd gesendet und empfangen. Dies ermöglicht eine Zuordnung hinsichtlich der Tiefe, aus welcher die Dopplerverschiebung kommt. Somit kann zusätzlich ein 2D-Bild aufgebaut werden.

Für die Untersuchungen wurde ein Ultraschallgerät (HDI® 3000, ATL, Solingen) mit einem 5-8 MHz Schallkopf verwendet. Um erhaltene Messungen und Aufnahmen zu speichern, wurde ein spezielles Datenverarbeitungsprogramm (SonoWin®, MESO Ingenieurbüro, Mittweida) verwendet. Zudem wurden sämtliche Aufnahmen auf Papier ausgedruckt.

#### **3.3.3.4.2 Durchführung der Untersuchung + Messparameter**

Für die Durchführung der Ultraschalluntersuchung wurden die Tiere mit einer Kombination aus 10 mg/kg KG Xylazin (Rompun®, BayerVital, Leverkusen) und 50 mg/kg KG Ketamin (Hostaket®, Intervet GmbH, Unterschleißheim) i.m. narkotisiert. Danach wurden sie in Rückenlage gebracht, der ventrale Thoraxbereich geschoren und mit Ultraschallgel benetzt. Nun wurden folgende Messungen durchgeführt:

## **M-Mode**

Hierzu wurde der Schallkopf rechts parasternal am Tier angesetzt, um die Messung in der kurzen Achse auf halber Höhe des linken Ventrikels im Papillarmuskelbereich durchzuführen. Folgende Parameter wurden gemessen:

- linksventrikulärer endsystolischer Diameter (LVDes)
- linksventrikulärer enddiastolischer Diameter (LVDed)
- Wanddicke des interventrikulären Septums enddiastolisch (IVSed)
- Dicke der posterioren Wand des linken Ventrikels enddiastolisch (PWed)

## **Doppler-Echokardiografie**

Hier wurden Flussparameter an der Mitralklappe gemessen. Dazu wurde der Schallkopf substernal in dorsokranialer Richtung mit einem Winkel von ca. 45° angesetzt. Mittels dieses „Vierkammerblickes“ konnte direkt hinter den Zipfeln der Mitralklappe der Blutfluss ermittelt werden. Folgende Parameter wurden gemessen:

- Geschwindigkeit der frühdiastolischen Füllungswelle (E = early)
- Geschwindigkeit der spätdiastolischen Füllungswelle (A = atrial)
- Dezelerationszeit der frühdiastolischen Füllungswelle (DeccT)

Aus den genannten Werten wurden zusätzlich folgende Parameter errechnet:

- Verkürzungsfraction (Fractional Shortening = FS)  

$$FS\% = (LVDed - LVDes) / LVDed \times 100$$
- E/A-Ratio (Verhältnis der Geschwindigkeit der frühdiastolischen Füllungswelle zur Geschwindigkeit der spätdiastolischen Füllungswelle)

### **3.3.3.5 *in vivo* Hämodynamikmessung**

Die *in vivo* Hämodynamik-Messung wurde unter der gleichen Narkose durchgeführt, die auch für die initiale Ischämie/Reperfusions-OP verwendet wurde.

Mit Eintreten der Narkose wurden die Tiere auf einem Kleintieroperationstisch (Heiland Vet GmbH, Hamburg) in Rückenlage gebracht und mit einem Trachealtubus (Willy Rüscher AG, Kernen) Gr. 3,0 intubiert. Sie wurden dann an

eine Atempumpe (NEMI Scientific, Medway, USA) angeschlossen und erhielten hierüber Sauerstoff und das Inhalationsnarkotikum (s.o.).

Weiter wurden die Tiere nun im ventralen Halsbereich, ventralen Brustbereich sowie im rechten Oberschenkel-Inguinalbereich geschoren. Hier erfolgte dann ein ca. 5 cm langer Hautschnitt, und die A. femoralis dextra wurde freipräpariert. Diese wurde inzisiert und ein Millar® Mikro Tip® Katheter der Stärke 2F (Hugo Sachs Elektronik, March-Hugostetten) eingeführt. Hierüber konnte der systemische Blutdruck gemessen werden. Anschließend wurde im ventralen Halsbereich die Haut ca. 6 cm lang inzisiert und die A. carotis dextra sowie die V. jugularis dextra freipräpariert. Die Vene wurde inzisiert und ein Mikrokatheter aus Polyethylen (Vygon) eingeführt. Der Katheter wurde zur späteren intravenösen Substanzgabe mit einer 10 ml-Spritze verbunden. Die Arterie wurde ebenso inzisiert, ein Millar® Mikro Tip® Katheter der Stärke 3F (Hugo Sachs Elektronik, March-Hugostetten) eingeführt und bis in den linken Ventrikel vorgeschoben.

Hiernach wurde die Haut im geschorenen medianen Brustbeinbereich etwa 10 cm lang aufgeschnitten, das darunter liegende Brustbein median der Länge nach durchtrennt und der Brustkorb aufgespreizt. Nun konnte die Aorta an ihrer Wurzel im Bereich der Herzbasis freipräpariert und ein Flussmesskopf (Transonic® Flowprobe, Hugo Sachs Elektronik, March-Hugostetten) umgelegt werden.

Bevor die eigentlichen Messungen durchgeführt wurden, wurde 15 Min. abgewartet, damit die Messparameter sich auf stabile Basalwerte einstellen konnten. Gemessen wurde hiernach für 60 Sek. der *linksventrikuläre Druck (LVP)*, *systemische mittlere Blutdruck (BP mean)*, die *max. Druckanstiegsgeschwindigkeit* und *max. Druckabfallsgeschwindigkeit ( $dP/dt_{min+max}$ )* und die *Herzfrequenz (HR)*.

Hiernach wurde den Tieren Isoproteronol jeweils im Abstand von fünf Minuten 0,03 µg/kg, 0,1 µg/kg und 0,3 µg/kg KG als Bolus i.v. verabreicht. Dazu wurden jeweils drei Minuten lang o.a. Parameter gemessen und aufgezeichnet. Für die Messungen waren die Druckkatheter sowie der Aortenflussmesskopf mit einem Druckumwandler (Biopac Systems, Santa Barbara, USA) verbunden. Dieser wandelte die gemessenen Drücke in elektrische Signale um und übermittelte sie

an ein elektronisches Differenzierungssystem Plugsys (Hugo Sachs Elektronik, March-Hugostetten). Seine analogen Signale wurden schließlich digitalisiert und über eine spezielle Software (NOTOCORD, Croissy-sur-Seine, Frankreich) bearbeitet und gespeichert.

### **3.3.3.6 Herzentnahme und Infarktgrößenbestimmung**

Am Versuchsende wurde das Tier mit ca. 4 ml gesättigter KCl-Lösung getötet, hiernach das Herz herausgeschnitten, freipräpariert und gewogen. Danach wurden die Vorhöfe entfernt, der rechte vom linken Ventrikel getrennt und beide separat gewogen.

Zur Ermittlung der Infarktgröße wurde der linke Ventrikel an dem sich noch befindenden Septum von der Basis spitzwärts aufgeschnitten. Danach wurde er aufgeklappt mit der Innenseite nach oben in eine Petrischale gelegt. Die Innenseite wurde dann fotografiert und über ein Bildanalysesystem (Leica Qwin, Leica Imaging Systems, Cambridge, England) die Gesamt- bzw. Infarktfläche planimetrisch ermittelt. Der prozentuale Anteil der Infarktfläche bezogen auf die Gesamtfläche des linken Ventrikels entsprach der Infarktgröße.

Letztlich wurde der linke Ventrikel in zwei Teile geschnitten, einer davon in Formalin aufbewahrt, der andere bei -80°C gelagert.



### **3.3.4 Herzinsuffizienzstudie**

#### **3.3.4.1 Experimenteller Myokardinfarkt**

##### *a) Chirurgisches Instrumentarium:*

Für diese OP wurde dasselbe Instrumentarium wie für die *I/R*-OP verwendet.

##### *b) Nahtmaterial:*

Vicryl Stärke 0 geflochten für Muskelnähte

Mersilene Stärke 0 geflochten für Hautnaht

Prolene Stärke 5/0 monofil für Gefäßligatur

Das Nahtmaterial wurde von der Fa. Ethicon, Norderstedt bezogen.

Die Narkose und OP-Technik stimmten in diesem Versuch bis zum Zeitpunkt des Wiederlösens der Ligatur mit dem unter 3.3.3 beschriebenen Vorgehen überein. Hier wurde anstattdessen die Ligatur verschlossen gelassen und weiter wie unter 3.3.3 vorgegangen.

Die Tiere, die zufällig für eine Behandlung mit Cariporide, Ramipril oder einer Kombination aus beidem ausgesucht wurden, erhielten 24 Std. p.op. entweder Cariporide 0,15%ig über das Futter (= 20 mg/kg/d), Ramipril 3,75 mg/l über das Trinkwasser (= 0,5 mg/kg/d) oder beides zusammen. Diese Behandlung erfolgte täglich und wurde bis zur abschließenden Untersuchung nach neun Wochen fortgeführt.

#### **3.3.4.2 Bestimmung des Körpergewichts + Blutprobenentnahme**

Die Tiere wurden am Tag der Infarkt-OP sowie eine, drei, acht und neun Wochen danach gewogen.

Weiterhin wurde ihnen drei, acht und neun Wochen nach der Infarkt-OP Blut aus der A. auricularis entnommen und sowohl in EDTA-Plasmaröhrchen als auch in Lithium-Heparinröhrchen aufgefangen. Das Blut wurde hiernach zentrifugiert, um danach den Plasmaüberstand abzupipettieren und vorerst tiefzufrieren.

### **3.3.4.3 proANP-Bestimmung, Aldosteron-Bestimmung, CRP-Bestimmung**

Die Messung des atrialen natriuretischen Peptids erfolgte auf selbe Art und Weise wie unter 3.3.3.2 beschrieben.

Das Hormon Aldosteron ist ein Mineralkortikoid, das in der Nebennierenrinde produziert wird. Es regelt zusammen mit dem Renin-Angiotensin-System den Natrium-Kalium-Haushalt und ist an der Steuerung des Flüssigkeits- und Elektrolythaushaltes beteiligt. Im Rahmen der Herzinsuffizienz kann es als Marker für eine progrediente Volumenüberladung angesehen werden.

Für die Messung wurde ein  $^{125}\text{I}$ -Radioimmunoassay (Coat-A-Count®, DPC, Los Angeles, USA) verwendet, der das Aldosteron direkt im Plasma messen kann.

Das Akutphaseprotein C-reaktives Protein ist als Serum-Marker nicht nur bei akuten Entzündungsprozessen von Bedeutung, sondern hat auch starken prädiktiven Wert für kardiovaskuläre Ereignisse (Lindahl et al., 2000). Es wird in der Leber synthetisiert und hat eine relativ kurze Halbwertszeit, wodurch sich z.B. entzündliche Veränderungen direkt in der CRP-Konzentration bemerkbar machen.

Zur Messung wurde ein ELISA (IMUCLONE®, american diagnostica inc., Greenwich, USA) verwendet, der das CRP direkt im Plasma misst.

### **3.3.4.4 Echokardiografie**

#### **3.3.4.4.1 Durchführung der Echokardiografie + Messparameter**

Für die Durchführung der Ultraschalluntersuchung wurden die Tiere auf gleiche Art und Weise narkotisiert wie unter 3.3.3.2.2 beschrieben. Zusätzlich zu den dort beschriebenen Messungen wurden folgende Untersuchungen durchgeführt:

#### **2D-Echokardiografie**

Für diese Messungen in der langen Achse wurde der Schallkopf linksseitig parasternal angesetzt. Folgende Parameter wurden gemessen:

- Fläche des linken Ventrikels diastolisch, lange Achse (AlVed, long axis)
- Fläche des linken Ventrikels systolisch, lange Achse (AlVes, long axis)

### **Doppler-Echokardiografie**

Um die Flussparameter in der Aorta zu messen, wurde der Schallkopf bei jedem Tier individuell unterschiedlich rechts- oder linksseitig parasternal angesetzt und eine Messung im Bereich des Bulbus aortae durchgeführt. Folgende Parameter wurden gemessen:

- Zeitdauer einer Flusspitze, gemessen an der Basis von Beginn des Anstiegs bis Ende des Abstiegs (LVET)
- Herzfrequenz

Um das Herzzeitvolumen (HZV) zu bestimmen, wurde der Blutfluss in der A. pulmonalis, sowie deren Durchmesser im Messbereich in der langen Achse bestimmt. Dazu wurde der Schallkopf linksseitig parasternal angelegt.

Aus den genannten Werten wurden, zusätzlich zu den unter 3.3.3.3.2 genannten, weitere Parameter errechnet:

- EF long axis (*Ejektionsfraktion des linken Ventrikels in der langen Achse*)  

$$EF\% \text{ l.a.} = (A_{ed} - A_{es}) / A_{ed} \times 100 \quad (\text{Fläche enddiastol.} - \text{Fläche endsystol.}) / \text{Fläche enddiastol.} \times 100$$
- Vcf (*Velocity of circumferential fiber shortening*) (*zirkumferentielle Verkürzungsgeschwindigkeit*)  

$$Vcf = (LVD_{ed} - LVD_{es}) / LVD_{ed} \times 1000 / LVET \quad (\text{linksventrikulärer Diameter enddiastol.} - \text{linksventrikulärer Diameter endsystol.}) / \text{linksventrikulärer Diameter enddiastol.} \times 1000 / \text{linksventrikuläre Ejektionszeit}$$
- A VTI (*aortal Velocity time integral*) (*Geschwindigkeitszeitintegral des Aortenflusses*)

### **3.3.4.5 in vivo Hämodynamikmessung**

Die Hämodynamikmessungen erfolgten auf gleiche Art und Weise wie in der *Ischämie/Reperusionsstudie*, auf die abschließende Isoproteronol-Gabe wurde hier verzichtet. Zu den bereits genannten Parametern wurden zusätzlich folgende gemessen: *linksventrikulärer enddiastolischer Druck (LVEDP)*, *Aortenfluss (AF)*.

#### **3.3.4.6 Herzentnahme, Gewichts- und Infarktgrößenbestimmungen**

Nachdem sämtliche Instrumente aus dem Tier entfernt wurden, wurde wie unter 3.3.3.5 beschrieben fortgefahren.

Zur Ermittlung der Infarktgröße wurde vorgegangen wie unter 3.3.3.5 beschrieben. Der linke Ventrikel wurde schließlich in vier Teile geschnitten, zwei davon in Formalin aufbewahrt und die restlichen zwei bei -80°C gelagert.

### **3.4 Statistik**

Zur statistischen Berechnung wurden bei beiden Studien die Werte der Einzeltiere in o.a. Gruppen eingeteilt, die jeweiligen Mittelwerte (MW) und deren mittlere Fehler (SEM) berechnet. Mittels des Computerprogramms SigmaStat wurden per Student'schem T-Test und Rank Sum Test Signifikanzen ermittelt. Signifikant waren Differenzen mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit  $p < 0,05$ .

## 4. Ergebnisse

### 4.1 *Ischämie-Reperfusionsstudie*

#### 4.1.1 Mortalitätsrate

Insgesamt wurden 41 Tiere für die *Ischämie/Reperfusionsstudie* operiert, wovon 80% überlebten und zur Abschlussuntersuchung herangezogen werden konnten. Hauptsterbeursache der acht Tiere war nicht terminierbares Kammerflimmern intra op oder Versterben der Tiere unmittelbar p.op., wahrscheinlich durch reperfusionsbedingtes Kammerflimmern.

Von den 33 zur abschließenden Untersuchung herangezogenen Kaninchen konnten letztendlich 30 ausgewertet werden, andere wurden wegen Narkosezwischenfällen bei der Abschlussuntersuchung von der Auswertung herausgenommen. Schließlich kam es je Gruppe zu einer Tierzahl von: *I/R* Kontrolle 5, *I/R* 8, *I/R Bolus Car.* 8, *I/R Bolus Car. + Futter Car.* 9.

#### 4.1.2 Ergebnisse der Echokardiografie

##### 4.1.2.1 Linksventrikuläre morphologische Parameter

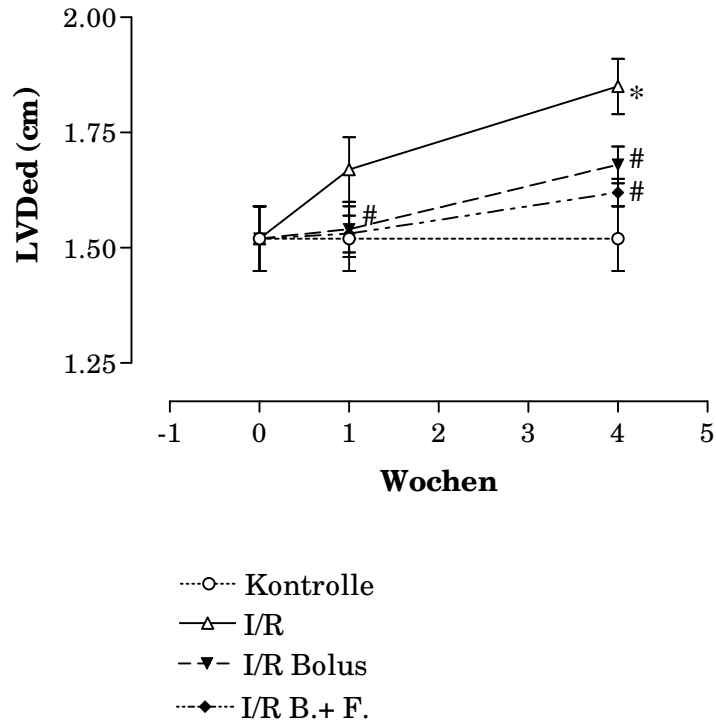
Die M-Mode-Messungen erlauben die geometrische Analyse des Innenraums des linken Ventrikels und des Myokards in Diastole und Systole. Somit erhält man Aufschluss über Größe und Durchmesser des linken Ventrikels sowie über Myokarddicke des Septums bzw. der Hinterwand.

Die echokardiografisch ermittelten morphologischen Parameter dieser Studie waren der linksventrikuläre Diameter enddiastolisch und -systolisch (LVDed, -es), Dicke des interventrikulären Septums enddiastolisch und -systolisch (IVSed, -es) und Dicke der posterioren Wand enddiastolisch und -systolisch (PWDed, -es). Eine Woche p.op. war eine Erhöhung sowohl des LVDed als auch des LVDdes in der *I/R*-Gruppe (LVDed:  $1,67 \pm 0,07$  cm; LVDdes:  $1,12 \pm 0,03$  cm) gegenüber der Kontrollgruppe ( $1,52 \pm 0,07$  cm;  $0,99 \pm 0,06$  cm) auszumachen, was in beiden Fällen sowohl durch die singuläre Bolusgabe ( $1,54 \pm 0,06$  cm;  $1,00 \pm 0,04$  cm), als auch die Bolus- und Futtergabe von Cariporide ( $1,53 \pm 0,04$  cm;  $0,97 \pm 0,03$  cm)

weitestgehend normalisiert werden konnte. In der vierten Woche p.op. setzte sich die Vergrößerung des LVDed der unbehandelten Gruppe ( $1,85 \pm 0,06$  cm) fort und war damit signifikant erhöht gegenüber der Kontrollgruppe (s.o.). Diese Entwicklung konnte durch die alleinige Bolus-Gabe ( $1,68 \pm 0,04$  cm), aber auch durch die kombinierte Bolus-Futtermenge von Cariporide ( $1,62 \pm 0,03$  cm) signifikant aufgehalten werden. Gleichfalls war der LVDes der I/R-Gruppe ( $1,31 \pm 0,04$  cm) zu diesem Zeitpunkt signifikant größer verglichen mit der Kontrollgruppe ( $0,99 \pm 0,06$  cm). Ebenso konnte dieser Zustand bereits durch die alleinige Bolus-Gabe von Cariporide, aber auch durch die zusätzliche Verfütterung signifikant verbessert werden.

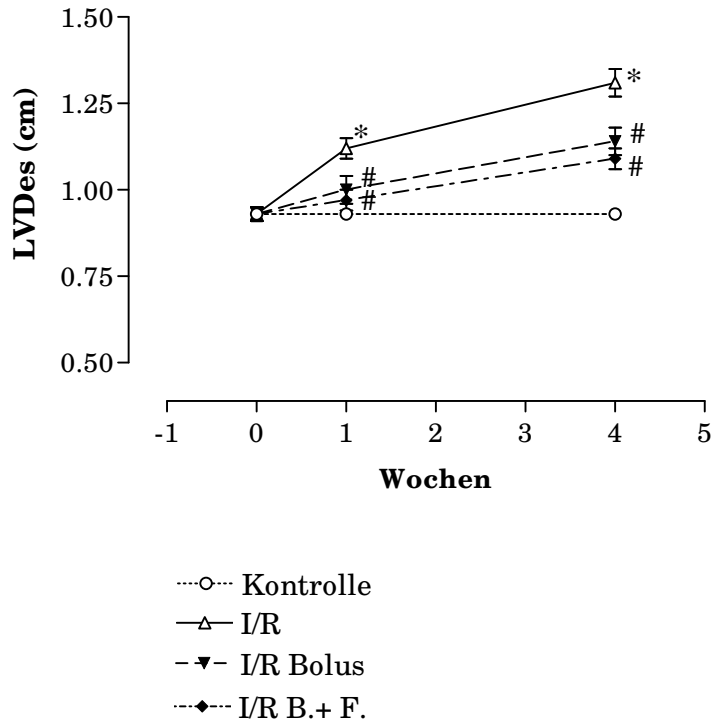
In Abb. 4 + 5 ist jeweils der zeitliche Verlauf der Veränderungen des linksventrikulären Diameters enddiastolisch und endsystolisch dargestellt.

***Zeitlicher Verlauf des linksventrikulären  
enddiastolischen Diameters***



**Abb. 4:** zeitlicher Verlauf des linksventrikulären enddiastolischen Diameters (LVDed) nach **0, 1 und 4 Wochen p.op.**; (Angaben: Mittelwert  $\pm$  SEM; \*:  $p < 0,05$  vs. Kontrolle; #:  $p < 0,05$  vs. I/R)

***Zeitlicher Verlauf des linksventrikulären  
endsystolischen Diameters***



**Abb. 5:** zeitlicher Verlauf des linksventrikulären endsystolischen Diameters (LVDdes) nach **0, 1 und 4 Wochen p.op.**; (Angaben: Mittelwert  $\pm$  SEM; \*:  $p < 0,05$  vs. Kontrolle; #:  $p < 0,05$  vs. I/R)



#### 4.1.2.2 Linksventrikuläre systolische Funktion

In dieser Studie wurde als systolischer Parameter das Fractional Shortening (FS) aus der kurzen Achse ermittelt. Gemessen wurde 1 und 4 Wochen p.op..

Eine Woche p.op. war das FS in den I/R-Gruppen tendenziell, also nicht signifikant, niedriger als in der Kontrollgruppe. Im Gegensatz dazu kam es sowohl durch die singuläre Cariporide-Bolusgabe, als auch durch deren Kombination mit der Cariporide-Verfütterung zu einer kompletten Normalisierung des FS.

In der vierten Woche setzte sich diese Entwicklung entsprechend fort. Hier war jedoch die I/R-Gruppe signifikant schlechter als die Kontrollgruppe, was durch die Cariporide-Gabe als Bolus, aber auch durch die kombinierte Bolus-Futtergabe signifikant verbessert werden konnte. (Tab. 1)

<i>1 Wo. p.op</i>	<i>Kontrolle</i>	<i>I/R</i>	<i>I/R Bolus</i>	<i>I/R B.+F.</i>
<b>FS (%)</b>	34,9 ± 1,3	33,1 ± 1,3	35,1 ± 1,5	36,5 ± 1,8

<i>4 Wo. p.op</i>	<i>Kontrolle</i>	<i>I/R</i>	<i>I/R Bolus</i>	<i>I/R B.+F.</i>
<b>FS (%)</b>	34,9 ± 1,3	29,3 ± 0,36 *	31,9 ± 1,7 #	32,9 ± 1,3 #

**Tab. 1:** Fractional Shortening (FS) in den Gruppen Kontrolle, I/R, I/R Bolus Cariporide und I/R Bolus+Futter Cariporide **1 und 4 Wochen p.op.**; (Angaben: Mittelwert ± SEM; \*: p<0,05 vs. Kontrolle; #: p<0,05 vs. I/R)

#### **4.1.2.3 Linksventrikuläre diastolische Funktion**

Zu den echokardiografisch ermittelten diastolischen Parametern zählen die Dezelerationszeit der frühdiastolischen Füllungswelle (DeccT), die jeweiligen Geschwindigkeiten der E- und A-Welle und die errechnete E/A-Ratio. Erstere beschreibt die Zeitspanne von der Spitze der E-Welle bis zu deren tiefsten Punkt. Die E/A-Ratio wiederum stellt das Verhältnis zwischen der maximalen Geschwindigkeit der frühdiastolischen (E) und spätdiastolischen (A) Füllungswelle dar. Es wurde in der Diastole während des Bluteinstroms an der Spitze des Mitralisklappensegels gemessen.

Während die Geschwindigkeit der E-Welle in der ersten postoperativen Woche unter den einzelnen Gruppen keine signifikanten Unterschiede aufwies, zeichneten sich bei der A-Welle bereits signifikante Differenzen unter den Gruppen ab. Die A-Wellen-Geschwindigkeit der unbehandelten Gruppe lag signifikant niedriger als die der Kontrollgruppe. Durch beide Behandlungsvarianten konnte dies signifikant verbessert werden. Nun wiesen zwar vier Wochen p.op. alle drei I/R-Gruppen kürzere Geschwindigkeiten der E-Welle als jene der Kontrollgruppe auf, jedoch zeigte die Geschwindigkeit der A-Welle signifikante Unterschiede zwischen den behandelten und der unbehandelten Gruppe. Dieser Parameter lag in der I/R-Gruppe signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe. Die singuläre Bolusgabe von Cariporide, aber auch die kombinierte Bolus-Futtermgabe konnte diesen Wert signifikant verbessern.

Die E/A-Ratio der I/R-Gruppe war bereits eine Woche p.op. signifikant höher gegenüber der Kontrollgruppe. Dies konnte durch beide Modi der Cariporide-Gabe signifikant verringert werden. Dieser Prozess setzte sich in der vierten Woche fort. Hier erbrachten beide Behandlungs-Modi eine Normalisierung der E/A-Ratio, im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Die Dezelerationszeit der unbehandelten Gruppe fiel initial in der ersten Woche p.op. gegenüber der Kontrollgruppe ab. Dies konnte durch beide Modi der Cariporide-Gabe verhindert werden. In der vierten postoperativen Woche war die Dezelerationszeit in allen Gruppen nicht signifikant verschieden.

(Tab. 2)

<i>1 Wo. p.op</i>	<b>Kontrolle</b>	<b>I/R</b>	<b>I/R Bolus</b>	<b>I/R B.+F.</b>
<b>DeccT (ms)</b>	49 ± 4	42,5 ± 4,3	48,8 ± 6,8	53,3 ± 2,9 #
<b>E/A-Ratio</b>	1,26 ± 0,01	1,78 ± 0,09 *	1,31 ± 0,03 #	1,34 ± 0,05 #
<b>E-Welle</b>	69,3 ± 5,4	59,2 ± 4,4	58,9 ± 4,8	58,3 ± 2,9
<b>A-Welle</b>	54,8 ± 4,2	33,6 ± 2,9 *	45,1 ± 3,7 #	44,5 ± 3,3 #

<i>4 Wo. p.op</i>	<b>Kontrolle</b>	<b>I/R</b>	<b>I/R Bolus</b>	<b>I/R B.+F.</b>
<b>DeccT (ms)</b>	49 ± 4	49,4 ± 4,7	50 ± 5,9	57,8 ± 6,9
<b>E/A-Ratio</b>	1,26 ± 0,01	2,02 ± 0,15 *	1,33 ± 0,05 #	1,37 ± 0,06 #
<b>E-Welle</b>	69,3 ± 5,4	64,4 ± 2,6	58,9 ± 4,5	57,2 ± 2,8 *
<b>A-Welle</b>	54,8 ± 4,2	32,5 ± 2,1 *	44,3 ± 3,7 #	42,4 ± 3,7 #

**Tab. 2:** E-Welle, A-Welle, E/A-Ratio und Dezelerationszeit der frühdiastolischen Füllungswelle **1 und 4 Wochen p.op.**; (Angaben: Mittelwert ± SEM; \*: p<0,05 vs. Kontrolle; #: p<0,05 vs. I/R)

#### **4.1.3 Körper-, Herz- und Ventrikelgewichte**

Zu Beginn der Studie betrug das mittlere Körpergewicht (KG) der Kaninchen 2,7 ± 0,1 kg. Sowohl hier, als auch in der vierten Woche (2,9 ± 0,1 kg) bestanden keine signifikanten Unterschiede der Körpergewichte zwischen den einzelnen Gruppen.

Obwohl die mittleren Herzgewichte aller drei I/R-Gruppen größer waren als das der Kontrollgruppe, lagen die Gewichte der behandelten Gruppen unter denen der unbehandelten Gruppe.

Das mittlere Gewicht der linken Ventrikel (LV) der I/R-Gruppe lag signifikant über dem der Kontrollgruppe. Obwohl die Cariporide Bolus- und Futtergabe

keinen Unterschied zur unbehandelten Gruppe erbrachte, lag das mittlere linksventrikuläre Gewicht der I/R Bolus-Gruppe unter dem der I/R-Gruppe.

Das Verhältnis Herzgewicht zu Körpergewicht (HG/KG) war in allen I/R-Gruppen gegenüber der Kontrollgruppe erhöht. Im Vergleich zur unbehandelten I/R-Gruppe konnte dies durch die Cariporide-Bolusgabe leicht abgesenkt werden. Schließlich wies das Verhältnis linker Ventrikel zu Körpergewicht (LV/KG) zwar höhere Werte bei den I/R-Gruppen verglichen mit der Kontrollgruppe auf, jedoch waren die Unterschiede geringfügig. (Tab. 3)

	<i><b>Kontrolle</b></i>	<i><b>I/R</b></i>	<i><b>I/R Bolus</b></i>	<i><b>I/R B.+F.</b></i>
<i><b>HG (g)</b></i>	6,8 ± 0,3	8,5 ± 0,5 *	7,8 ± 0,3	8,3 ± 0,4 *
<i><b>LV (g)</b></i>	4,1 ± 0,1	4,8 ± 0,3 *	4,5 ± 0,1	4,8 ± 0,2
<i><b>HG/KG (g/kg)</b></i>	2,5 ± 0,1	2,8 ± 0,1 *	2,7 ± 0,1	3 ± 0,2 *
<i><b>LV/KG (g/kg)</b></i>	1,5 ± 0,0	1,6 ± 0,1	1,6 ± 0,1	1,7 ± 0,1

Tab. 3: Herzgewicht (HG), linksventrikuläres Gewicht (LV), Herzgewicht/Körpergewicht-Ratio (HG/KG-Ratio) und LV/KG-Ratio der Gruppen Kontrolle, I/R, I/R Bolus und I/R B. + F. **vier Wochen p.op.**; (Angaben: Mittelwert ± SEM; \*: p<0,05 vs. Kontrolle)

#### 4.1.4 Ergebnisse der Hämodynamik

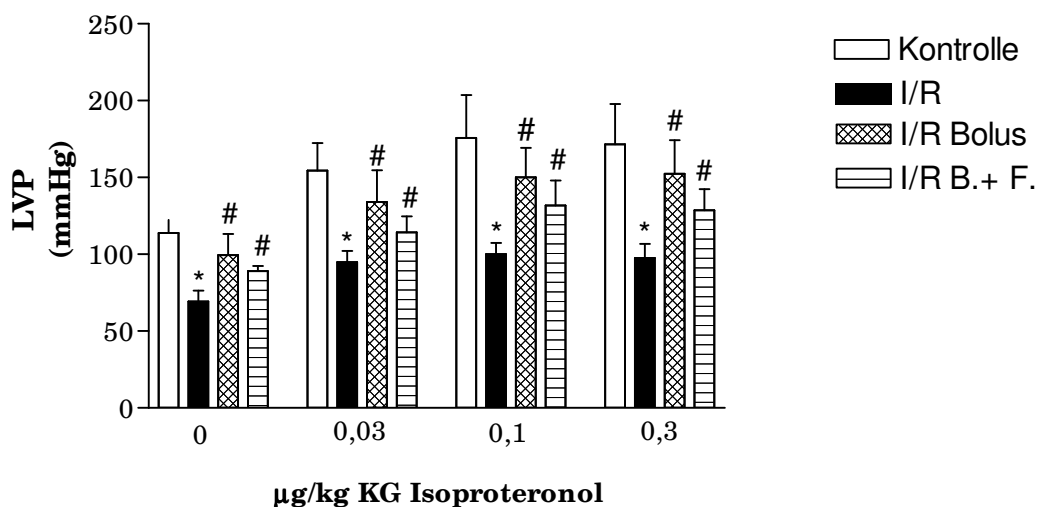
##### 4.1.4.1 Linksventrikulärer systolischer Druck

Bei der initialen Messung des linksventrikulären Drucks ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen. Der Basalwert der I/R-Gruppe (69,3 ± 7,1 mmHg) lag signifikant unter dem der Kontrollgruppe (113,9 ± 8,5 mmHg) (p<0,05). Diese Absenkung konnte durch die singuläre Bolusgabe von Cariporide (99,4 ± 13,9 mmHg), aber auch durch die Kombination

mit Futter signifikant aufgehoben werden ( $89 \pm 3,3$  mmHg) im Vergleich zur unbehandelten I/R-Gruppe.

Nach jeder der drei Stimulationen mit Isoproterenol ( $0,03 \mu\text{g/kg KG}$ ;  $0,1 \mu\text{g/kg KG}$ ;  $0,3 \mu\text{g/kg KG}$ ) wies ebenfalls die I/R-Gruppe ( $94,9 \pm 7,2$  mmHg;  $100,1 \pm 7,3$  mmHg;  $97,5 \pm 9,3$  mmHg) signifikant niedrigere Werte gegenüber der Kontrollgruppe ( $154,4 \pm 17,9$  mmHg;  $175,8 \pm 27,8$  mmHg;  $171,5 \pm 26,4$  mmHg) auf. Eine signifikante Verbesserung des Parameters konnte ebenso nach allen drei Isoproterenol-Gaben, vor allem bereits durch die einmalige Bolus-Gabe von Cariporide ( $134 \pm 20,7$  mmHg;  $150,1 \pm 19,1$  mmHg;  $152,3 \pm 22$  mmHg) und auch in geringerem Maße durch die zusätzliche Verfütterung der Substanz ( $114,2 \pm 10,4$  mmHg;  $131,7 \pm 16,4$  mmHg;  $128,6 \pm 13,7$  mmHg), erzielt werden.

Abb. 6 zeigt als Balkendiagramm den Verlauf des LVP nach drei Isoproterenol-Stimulationen.



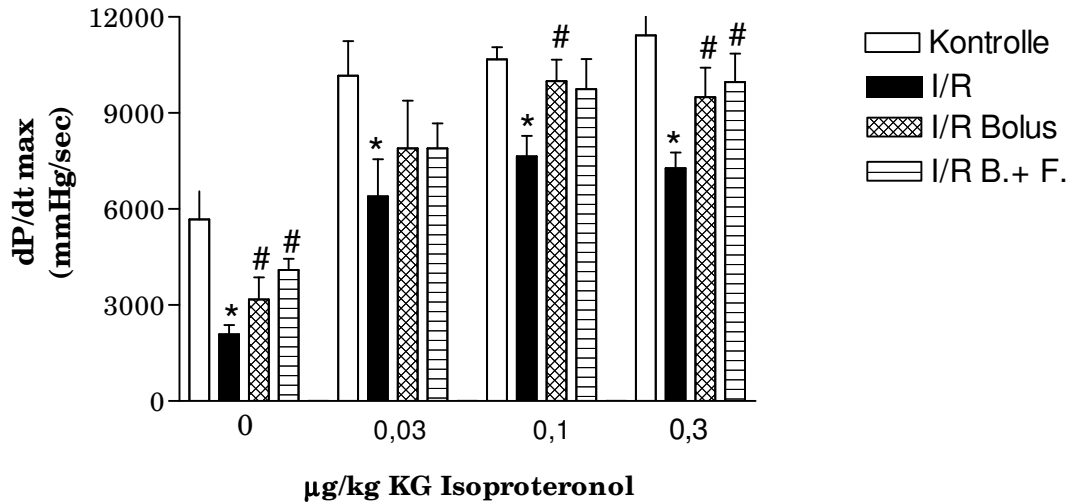
**Abb. 6:** Veränderungen des LVP der Gruppen Kontrolle, I/R, I/R Bolus und I/R B. + F. nach dreimaliger Stimulation mit Isoproterenol **vier Wochen p.op.**; ( $0,03 \mu\text{g/kg}$ ;  $0,1 \mu\text{g/kg}$ ;  $0,3 \mu\text{g/kg KG}$ ); (Angaben: Mittelwert  $\pm$  SEM; \*:  $p < 0,05$  vs. Kontrolle; #:  $p < 0,05$  vs. I/R)

#### 4.1.4.2 Kontraktilität

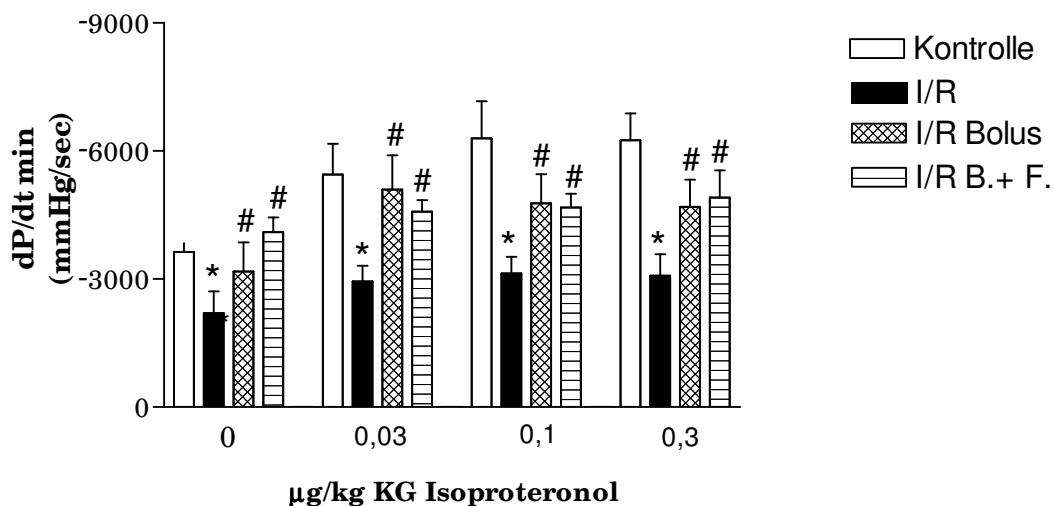
Die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit  $dP/dt$  (max) als Kontraktilitätsparameter und die maximale Druckabfallsgeschwindigkeit  $dP/dt$  (min) als Relaxationsparameter verschlechterten sich basal beide in der I/R-Gruppe ( $dP/dt$  max  $2080 \pm 291,5$  mmHg/sec;  $dP/dt$  min  $-2203 \pm 505,9$  mmHg/sec) signifikant gegenüber der Kontrollgruppe ( $dP/dt$  max  $5675 \pm 884,4$  mmHg/sec;  $dP/dt$  min  $-3636 \pm 207$  mmHg/sec). Diese Entwicklung bestätigte sich auch nach den drei Stimulationen mit Isoproteronol. Beide Parameter waren nach den jeweiligen Gaben in der I/R-Gruppe signifikant verschlechtert gegenüber denen der Kontrollgruppe.

Die Basalwerte der beiden Parameter konnten sowohl durch die Cariporide-Bolusgabe, aber auch durch die kombinierte Futter-Bolusgabe signifikant verbessert werden. Nach allen drei Gaben von Isoproteronol wiesen die beiden behandelten Gruppen, sowohl in der Kontraktion, als auch in der Relaxation bessere Parameter auf als die I/R-Gruppe. Die Werte der Relaxation waren sowohl in der I/R-Bolusgruppe als auch in der Gruppe mit zusätzlicher Fütterung von Cariporide sogar signifikant besser. Die Kontraktilität konnte nach der zweiten und dritten Gabe von Isoproteronol bereits signifikant durch die alleinige Bolusgabe von Cariporide erhöht werden, die zusätzliche Verfütterung der Substanz erbrachte nach der dritten Isoproteronol-Gabe einen signifikant höheren Wert.

Abb. 7 und 8 zeigt als Balkendiagramm den Verlauf des  $dP/dt$  max und min nach drei Isoproteronol-Stimulationen.



**Abb. 7:** Veränderungen der maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit (dP/dt max) der Gruppen Kontrolle, I/R, I/R Bolus und I/R B. + F. nach dreimaliger Stimulation mit Isoproterenol **vier Wochen p.op.**; (0,03 µg/kg; 0,1 µg/kg; 0,3 µg/kg KG); (Angaben: Mittelwert ± SEM; \*: p<0,05 vs. Kontrolle; #: p<0,05 vs. I/R)



**Abb. 8:** Veränderungen der maximalen Druckabfallsgeschwindigkeit (dP/dt min) der Gruppen Kontrolle, I/R, I/R Bolus und I/R B. + F. nach dreimaliger Stimulation mit Isoproterenol **vier Wochen p.op.**; (0,03 µg/kg; 0,1 µg/kg; 0,3 µg/kg KG); (Angaben: Mittelwert ± SEM; \*: p<0,05 vs. Kontrolle; #: p<0,05 vs. I/R)

#### **4.1.4.3 Blutdruck und Herzfrequenz**

Der mittlere Blutdruck lag basal in der unbehandelten I/R-Gruppe signifikant unter dem der Kontrollgruppe. Nach allen drei Bolusgaben von Isoproteronol (0,03 µg/kg; 0,1 µg/kg; 0,3 µg/kg KG) lagen die Werte der I/R-Gruppe ebenfalls unter denen der Kontrollgruppe, nach der ersten Stimulation sogar signifikant.

Die singuläre Cariporide-Bolusgabe konnte sowohl den Basalwert des mittleren Blutdruckes, als auch den Wert nach der ersten Isoproteronol-Stimulation signifikant gegenüber der I/R-Gruppe verbessern. Die Werte nach der zweiten und dritten Stimulation lagen ebenfalls über denen der I/R-Gruppe. Die zusätzliche Verfütterung von Cariporide erzielte sogar basal und nach allen drei Stimulationen eine signifikante Erhöhung des Blutdrucks.

Grundsätzlich war festzustellen, dass nach jeder Stimulation durch Isoproteronol der Blutdruck in allen Gruppen kontinuierlich absank.

Die Herzfrequenz der Kontrollgruppe wies sowohl basal als auch nach jeder Stimulation mit Isoproteronol den höchsten Wert unter allen Gruppen auf. Die I/R-Gruppe zeigte basal den niedrigsten Wert, welcher hier durch beide Behandlungs-Modi, vor allem aber durch die kombinierte Cariporide-Gabe erhöht werden konnte.

Nach den einzelnen Stimulationen durch Isoproteronol konnten lediglich geringfügige Unterschiede zwischen den behandelten und der unbehandelten Gruppe ausgemacht werden. (Tab. 4 + 5)



<b><i>BP mean (mmHg)</i></b>	<b><i>Kontrolle</i></b>	<b><i>I/R</i></b>	<b><i>I/R Bolus</i></b>	<b><i>I/R B.+F.</i></b>
<i>basal</i>	79,9 ± 7,1	48,4 ± 4,6 *	66,5 ± 7,8 #	63,5 ± 3,5 #
<i>1. Iso 0,03</i>	65,9 ± 4,4	41,9 ± 4,1 *	53,7 ± 5,8 #	55 ± 3 #
<i>2. Iso 0,1</i>	54,7 ± 4,2	41,8 ± 4,7	47,7 ± 3,9	51,6 ± 3,1 #
<i>3. Iso 0,3</i>	48,6 ± 3,9	40,8 ± 4,4	49 ± 4,8	50,7 ± 4,6 #

<b><i>HR (b./min)</i></b>	<b><i>Kontrolle</i></b>	<b><i>I/R</i></b>	<b><i>I/R Bolus</i></b>	<b><i>I/R B.+F.</i></b>
<i>Basal</i>	313 ± 20,4	270 ± 24	274 ± 12,9	300 ± 15,4
<i>1. Iso 0,03</i>	332 ± 11,5	312 ± 11,4	293 ± 14,7	314 ± 12,9
<i>2. Iso 0,1</i>	349 ± 11,6	322 ± 9 *	325 ± 8	325 ± 12,8
<i>3. Iso 0,3</i>	347 ± 9,3	330 ± 8,4	328 ± 6,2	327 ± 14,6

Tab. 4 + 5: Herzfrequenz (HR) und mittlerer Blutdruck (BP) **vier Wochen p.op.**; (Angaben: Mittelwert ± SEM; \*: p<0,05 vs. Kontrolle; #: p<0,05 vs. I/R)

#### 4.1.5 Infarktgrößen

Bei der planimetrischen Infarktgrößenbestimmung ergaben sich hochsignifikante Unterschiede zwischen unbehandelter Gruppe (15,9 ± 1,8%) und behandelten Gruppen. Die einmalige Bolusgabe von Cariporide erzielte eine hochsignifikante Infarktgrößenverringerng verglichen mit der I/R-Gruppe (3,3 ± 1,2%). Die geringste mittlere Infarktgröße erlangte die kombinierte Cariporide-Gabe in Bolus- und Futterform (1,1 ± 0,7%).

#### 4.1.6 Plasmabestimmungen

##### 4.1.6.1 Ck

Der mittlere Wert der Ck-Plasmakonzentration lag unmittelbar p.op. in der I/R-Gruppe signifikant über dem der Kontrollgruppe. Durch beide Modi der Cariporide-Gabe konnte dieser Wert signifikant abgesenkt werden.

In der vierten postoperativen Woche lag der Wert der unbehandelten Gruppe ebenso signifikant über dem der Kontrollgruppe. Vor allem die einmalige Bolusgabe von Cariporide führte bereits zu einer Absenkung des Ck-Wertes, in abgeschwächter Form wurde dies auch durch die Bolusgabe mit anschließender Fütterung erreicht. (Tab. 6 + 7)

#### 4.2.6.2 proANP

Der durchschnittliche Wert der proANP-Plasmakonzentration stieg im Vergleich zur Kontrollgruppe vier Wochen p.op. in der I/R-Gruppe signifikant an. Beide Varianten der Cariporide-Gabe führten zu einer Absenkung des proANP-Wertes, die alleinige Bolusgabe erzielte sogar eine Signifikanz. (Tab. 7)

<i>1 Std. p.isch.</i>	<b>Kontrolle</b>	<b>I/R</b>	<b>I/R Bolus</b>	<b>I/R B.+F.</b>
<b>Ck (U/L)</b>	888 ± 266	2364 ± 379 *	1341 ± 153 #	1471 ± 208 #

<i>4 Wo. p.isch.</i>	<b>Kontrolle</b>	<b>I/R</b>	<b>I/R Bolus</b>	<b>I/R B.+F.</b>
<b>Ck (U/L)</b>	1729 ± 1239	10381 ± 2352 *	7229 ± 1809	9741 ± 1629
<b>proANP (fmol/ml)</b>	1447 ± 228	3132 ± 561 *	1941 ± 499 #	2181 ± 420

Tab. 6 + 7: Creatinkinase- und proANP-Plasmaspiegel **vier Wochen p.op.**;  
(Angaben: Mittelwert ± SEM; \*: p<0,05 vs. Kontrolle; #: p<0,05 vs. I/R)

## 4.2 Herzinsuffizienzstudie

### 4.2.1 Mortalitätsrate

Für die *Herzinsuffizienzstudie* wurden insgesamt 79 Tiere operiert, wovon 76% überlebten und schließlich zur Abschlussuntersuchung herangezogen werden konnten. Die Hauptsterbeursache der 19 Tiere lag in nicht behebbarem Kammerflimmern während der Infarkt-OP oder plötzlichem Tod binnen 24 Std. p.op., möglicherweise ebenso bedingt durch Kammerflimmern oder aber akute Herzinsuffizienz.

Von den 60 zur Abschlussuntersuchung herangezogenen Kaninchen konnten letztlich 49 ausgewertet werden. Andere wurden wegen zu geringer Infarktgröße (<30%) oder während der Abschlussuntersuchung auftretender Probleme, wie Narkosezwischenfälle, unstillbare Blutungen oder zu starke Verklebungen im Thorax von der Wertung ausgeschlossen. Je Gruppe lag schließlich folgende Tierzahl vor: *Scheinoperierte* 10, *MI/Kontrolle* 9, *MI/Ramipril* 11, *MI/Cariporide* 10, *MI/Cariporide + Ramipril* 9.

### 4.2.2 Ergebnisse der Echokardiografie

#### 4.2.2.1 Linksventrikuläre morphologische Parameter

Zu den echokardiografisch ermittelten morphologischen Parametern zählen hier der linksventrikuläre Diameter enddiastolisch und -systolisch (LVDed, -es), Dicke des interventrikulären Septums enddiastolisch und -systolisch (IVSed, -es) und Dicke der posterioren Wand enddiastolisch und -systolisch (PWDed, -es).

In der ersten Woche zeigte sich beim LVDed bereits ein geringer Anstieg in allen Gruppen mit MI (MI/Kontrolle:  $1,53 \pm 0,05$  cm; MI/Cariporide:  $1,54 \pm 0,04$  cm; MI/Ramipril:  $1,54 \pm 0,05$  cm; MI/Ram. + Car.:  $1,51 \pm 0,02$  cm) gegenüber den Scheinoperierten ( $1,44 \pm 0,04$  cm), der jedoch nicht signifikant war. Im LVDes zeigte sich eine ähnliche Entwicklung. Die Werte der MI-Gruppen (MI/Kontrolle:  $1,06 \pm 0,04$  cm; MI/Cariporide:  $1,05 \pm 0,04$  cm; MI/Ramipril:  $1,07 \pm 0,04$  cm; MI/Ram. + Car.:  $1,02 \pm 0,03$  cm) waren gegenüber den Scheinoperierten ( $0,97 \pm 0,04$  cm) höher.

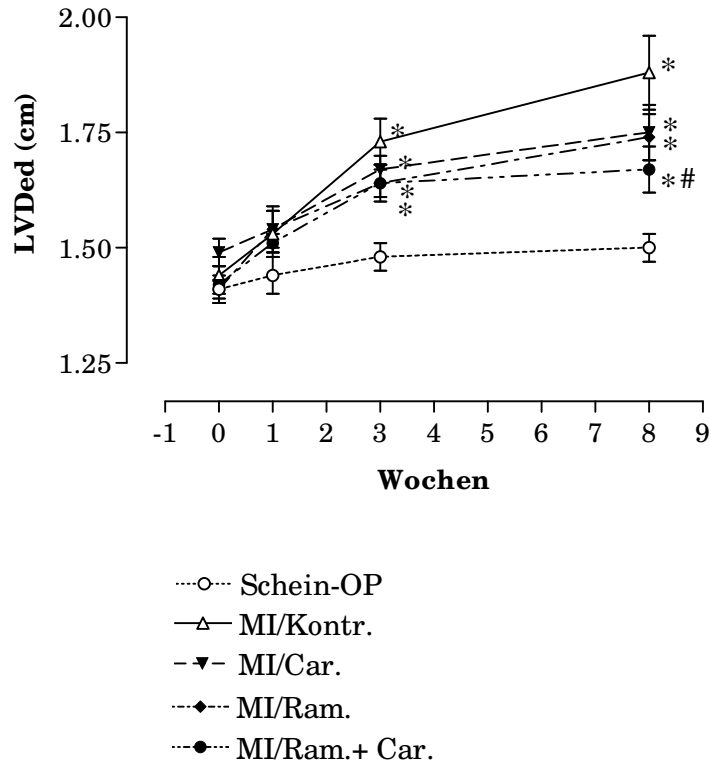
Schon in der dritten Woche nahm der LVDed der MI/Kontrollgruppe ( $1,73 \pm 0,05$  cm) signifikant gegenüber den Scheinoperierten ( $1,46 \pm 0,03$  cm) zu. Die drei Behandlungs-Modi MI/Car. ( $1,67 \pm 0,03$  cm), MI/Ram. ( $1,64 \pm 0,04$  cm) und MI/Ram.+Car. ( $1,64 \pm 0,03$  cm) konnten diesen Prozess verlangsamen, dennoch waren auch ihre LVDed signifikant verglichen mit den Scheinoperierten. Der LVDed der MI/Kontrollgruppe ( $1,25 \pm 0,04$  cm) war zu diesem Zeitpunkt ebenfalls signifikant höher gegenüber dem der Scheinoperierten ( $0,98 \pm 0,03$  cm). Dies konnte signifikant sowohl durch die Cariporide-Gabe ( $1,13 \pm 0,03$  cm), die Ramipril-Gabe ( $1,12 \pm 0,03$  cm), als auch durch deren Kombination ( $1,10 \pm 0,02$  cm) verbessert werden.

In der achten Woche setzte sich der signifikante Anstieg des LVDed der MI/Kontrollgruppe ( $1,88 \pm 0,08$  cm) im Vergleich mit den Scheinoperierten ( $1,5 \pm 0,03$  cm) fort. Hier konnte die jeweils alleinige Gabe von Cariporide ( $1,75 \pm 0,06$  cm) und Ramipril ( $1,74 \pm 0,05$  cm) keinen signifikanten Effekt erzielen; durch die Kombination der beiden ( $1,67 \pm 0,05$  cm) hingegen konnte eine signifikante Verringerung erreicht werden. Auch der LVDed der MI/Kontrollgruppe ( $1,4 \pm 0,05$  cm) war zu diesem Zeitpunkt signifikant erhöht gegenüber dem der Scheinoperierten ( $1,02 \pm 0,04$  cm). Auch hier konnte sowohl die Cariporide-Gabe ( $1,19 \pm 0,04$  cm), die Ramipril-Gabe ( $1,19 \pm 0,04$  cm), als auch die kombinierte Behandlung ( $1,15 \pm 0,04$  cm) zu einer signifikanten Absenkung führen.

In Abb. 9 und 10 ist jeweils der zeitliche Verlauf der Veränderungen des linksventrikulären Diameters enddiastolisch bzw. endsystolisch dargestellt.

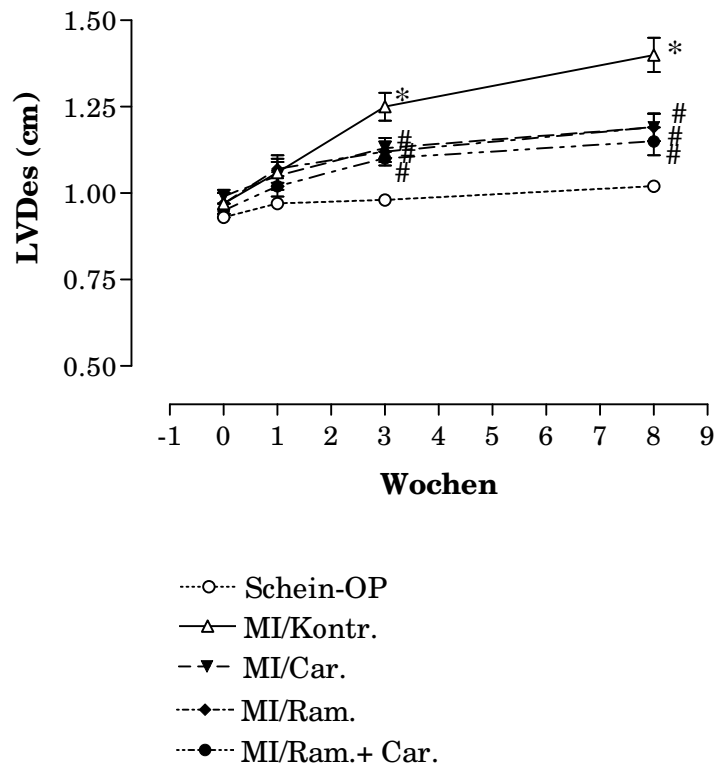
In Abb. 11 sind zwei Ultraschallbilder zu sehen, die vergleichsweise den LVDed eines scheinoperierten Tieres und eines Infarkt-Kontrolltieres acht Wo. p.op. zeigen.

***Zeitlicher Verlauf des linksventrikulären  
enddiastolischen Diameters***

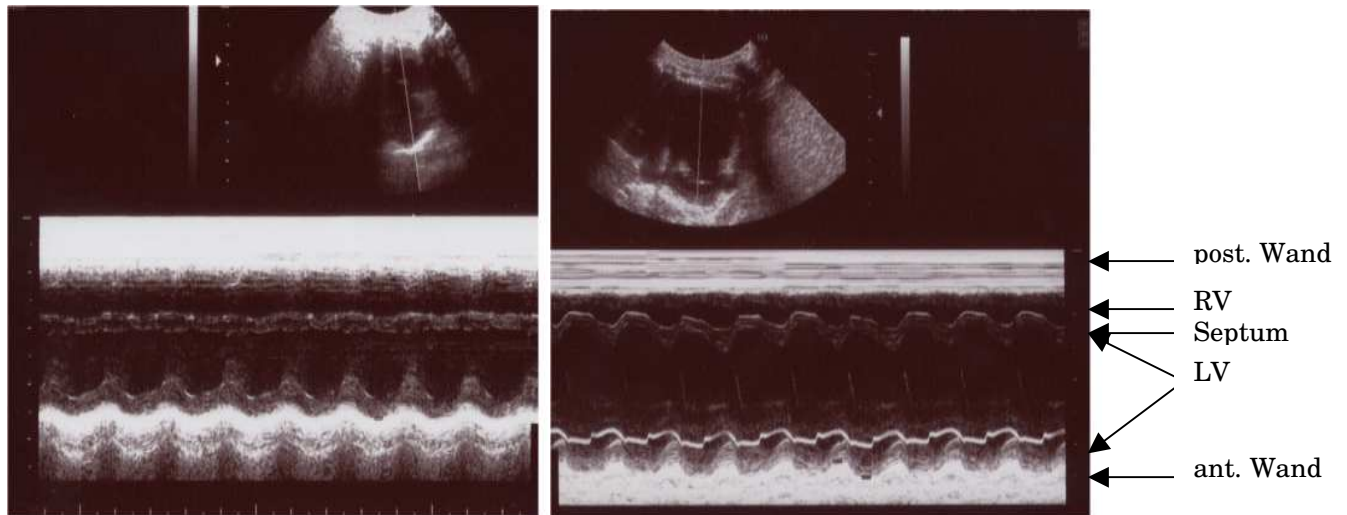


**Abb. 9:** zeitlicher Verlauf des linksventrikulären enddiastolischen Diameters nach **0, 1, 3 und 8 Wochen p.op.**; (Angaben: Mittelwert  $\pm$  SEM; \*:  $p < 0,05$  vs. Scheinoperiert; #:  $p < 0,05$  vs. MI/Kontrolle)

***Zeitlicher Verlauf des linksventrikulären  
endsystolischen Diameters***



**Abb. 10:** zeitlicher Verlauf des linksventrikulären endsystolischen Diameters nach **0, 1, 3 und 8 Wochen p.op.**; (Angaben: Mittelwert  $\pm$  SEM; \*:  $p < 0,05$  vs. Scheinoperiert; #:  $p < 0,05$  vs. MI/Kontrolle)



**Abb. 11:** Ultraschallaufnahme des linken Ventrikels im M-Mode eines Scheinoperierten (li.) und eines MI/Kontrolltieres (re.) **8 Wochen p.op.**  
 LV: linker Ventrikel; RV: rechter Ventrikel; post.: posterior; ant.: anterior

#### 4.2.2.2 Linksventrikuläre systolische Funktion

Zu den echokardiografisch ermittelten systolischen Parametern zählen Fractional Shortening (FS), ermittelt aus der kurzen Achse, sowie velocity of circumferential fiber shortening (Vcf), Herzzeitvolumen (HZV), aortal velocity time integral (A VTI) und die Ejektionsfraktion (EF l.a.), gemessen in der langen Achse. Sie wurden 1, 3 und 8 Wochen p.op. gemessen.

Eine Woche p.op. waren nur geringfügige Unterschiede in der linksventrikulären systolischen Funktion festzustellen. So war das FS bei den Scheinoperierten ( $32,7 \pm 1,29\%$ ), in MI/Kontrolle ( $30,5 \pm 0,48\%$ ), in MI/Cariporide ( $32,1 \pm 1,1\%$ ), in MI/Ramipril ( $30,5 \pm 0,97\%$ ) und in MI/Ram. + Car. ( $32,5 \pm 1,72\%$ ). Bereits in der dritten Woche konnten jedoch signifikante Verschlechterungen in allen o.a. systolischen Parametern der MI/Kontrollgruppe gegenüber den Scheinoperierten ausgemacht werden. Alle Werte konnten durch die drei Behandlungs-Modi verbessert werden (siehe Tab. 8). Das Fractional Shortening wurde sowohl durch die Ramipril-Behandlung als auch durch die Cariporide-Behandlung signifikant verbessert, wobei die Kombinationstherapie den Wert sogar normalisieren konnte. Auch verbesserte die Kombinationsbehandlung das Vcf am besten, aber auch die Cariporide- und die Ramipril-Gabe konnte diesen Parameter signifikant erhöhen. Die EF in der langen Achse konnte ebenfalls durch alle drei

Behandlungs-Modi signifikant erhöht werden, wobei hier Cariporide die beste Wirkung zeigte. Das Herzzeitvolumen konnte ebenso durch die Cariporide-Behandlung normalisiert werden, aber auch die anderen beiden Behandlungs-Modi zeigten signifikante Verbesserungen dieses Parameters. Schließlich konnte das A VTI am besten durch die Behandlung mit Ramipril verbessert werden, jedoch ohne Signifikanz.

In der achten Woche p.op. zeichnete sich eine progressive Verschlechterung aller systolischer Parameter der MI/Kontrollgruppe gegenüber den Scheinoperierten ab. Die Werte des A VTI, FS, Vcf und HZV konnten durch alle drei Behandlungs-Modi signifikant verbessert werden, vor allem die Cariporide-Behandlung, aber auch die kombinierte Therapie führte sogar zu einer weitestgehenden Normalisierung der Parameter. Die EF l.a. war hier zwar unter allen drei Behandlungen signifikant gegenüber der Scheinoperierten verschlechtert, jedoch konnte eine signifikante Verbesserung gegenüber der MI/Kontrollgruppe wiederum durch alle Behandlungen erzielt werden. (Tab. 8)



3 Wo. p.op	<i>Schein-OP</i>	<i>MI/Kontr.</i>	<i>MI/Car.</i>	<i>MI/Ram.</i>	<i>MI/R+C</i>
<b>A VTI</b> (cm)	19,7 ± 0,78	16,4 ± 0,94 *	16,9 ± 3,1	18,9 ± 0,62	17,3 ± 1,01
<b>FS</b> (%)	32,9 ± 1,2	28,1 ± 0,56 *	32,2 ± 2,0 #	31,3 ± 0,72 #	32,8 ± 0,99 #
<b>Vcf</b> (circ/sec)	2,66 ± 0,17	1,89 ± 0,05 *	2,42 ± 0,16 #	2,35 ± 0,1 #	2,45 ± 0,09 #
<b>EF l.a.</b> (%)	44,3 ± 1,3	31,4 ± 1,7 *	38,3 ± 1,7 #	36,7 ± 1,5 #	36,9 ± 1,2 #
<b>HZV</b> (ml/min)	311,8 ± 15,2	237,5 ± 13,4 *	311 ± 14,9 #	290,1 ± 22,9 #	278,2 ± 12,7 #

8 Wo. p.op	<i>Schein-OP</i>	<i>MI/Kontr.</i>	<i>MI/Car.</i>	<i>MI/Ram.</i>	<i>MI/R+C</i>
<b>A VTI</b> (cm)	19,1 ± 1,9	11,9 ± 1,3 *	19,2 ± 1,6 #	17,9 ± 1,4 #	18,8 ± 0,9 #
<b>FS</b> (%)	32,2 ± 1,3	25,3 ± 1,2 *	31,2 ± 1,3 #	30,8 ± 0,44 #	30,8 ± 0,32 #
<b>Vcf</b> (circ/sec)	2,58 ± 0,21	1,61 ± 0,08 *	2,46 ± 0,19 #	2,36 ± 0,14 #	2,39 ± 0,1 #
<b>EF l.a.</b> (%)	43,7 ± 2,5	24,5 ± 1,1 *	35,7 ± 1,4 #*	33,7 ± 1,3 #*	35,6 ± 0,7 #*
<b>HZV</b> (ml/min)	304,8 ± 13,6	220 ± 6,3 *	316,7 ± 15,7 #	304,4 ± 14,9 #	305,6 ± 11,7 #

**Tab. 8:** Geschwindigkeitszeitintegral des Aortenflusses (A VTI), Fractional Shortening (FS), Velocity of circumferential fiber shortening (Vcf), Ejectionsfraktion lange Achse (EF l.a.) und Herzzeitvolumen (HZV) der Gruppen Scheinoperiert, MI/Kontrolle, MI/Cariporide, MI/Ramipril und MI/Ram.+Car. **3 und 8 Wochen p.op.**; (Angaben: Mittelwert ± SEM; \*: p<0,05 vs. Scheinoperiert; #: p<0,05 vs. MI/Kontrolle)

#### 4.2.2.3 Linksventrikuläre diastolische Funktion

Ebenso wie in der *Ischämie/Reperusionsstudie* wurde hier die Dezelerationszeit der frühdiastolischen Füllungswelle (DeccT) ermittelt und die E/A-Ratio berechnet.

Die E/A-Ratio war in der ersten Woche in allen infarzierten Gruppen gegenüber den Scheinoperierten erhöht, jedoch ohne Signifikanz. Ab der dritten Woche lagen die Werte der MI/Kontrollgruppe signifikant über denen der Scheinoperierten. Dies konnte durch die Cariporide- und die kombinierte Behandlung signifikant verringert werden, nicht jedoch durch die Ramipril-Behandlung. In der achten Woche setzte sich diese Entwicklung fort, zusätzlich führte hier auch die Ramipril-Behandlung zu einer signifikanten Absenkung der E/A-Ratio.

Die Dezelerationszeit der frühdiastolischen Füllungswelle der MI/Kontrollgruppe war bereits eine Woche p.op. niedriger als die der Scheinoperierten. Dieser Trend setzte sich in der dritten Woche fort, in der achten Woche war dies sogar signifikant. Diese Entwicklung konnte durch alle drei Behandlungs-Modi sowohl in der ersten, als auch in der dritten und achten Woche p.op. aufgehalten werden. In der ersten Woche bereits konnte durch die Behandlung mit Cariporide nahezu eine Normalisierung der Dezelerationszeit erzielt werden. In der dritten und achten Woche konnte neben der kombinierten Behandlung und der mit Cariporide auch die Ramipril-Behandlung eine Verbesserung dieses Parameters erzielen. (Tab. 9)

<i>1 Wo. p.op</i>	<i>Schein-OP</i>	<i>MI/Kontr.</i>	<i>MI/Car.</i>	<i>MI/Ram.</i>	<i>MI/R+C</i>
<b><i>E/A-Ratio</i></b>	1,36 ± 0,07	1,52 ± 0,05	1,45 ± 0,07	1,52 ± 0,05	1,53 ± 0,08
<b><i>DeccT (ms)</i></b>	49,3 ± 5,2	36,9 ± 2,4	48,3 ± 2,5	43,8 ± 4,4	42 ± 3,1

<i>3 Wo. p.op</i>	<i>Schein-OP</i>	<i>MI/Kontr.</i>	<i>MI/Car.</i>	<i>MI/Ram.</i>	<i>MI/R+C</i>
<b><i>E/A-Ratio</i></b>	1,42 ± 0,06	1,84 ± 0,06 *	1,56 ± 0,06 #	1,65 ± 0,08	1,58 ± 0,08 #
<b><i>DeccT (ms)</i></b>	50 ± 5,2	46,3 ± 3,1	46,1 ± 2,9	49,6 ± 3,1	43,1 ± 2,4

<i>8 Wo. p.op</i>	<i>Schein-OP</i>	<i>MI/Kontr.</i>	<i>MI/Car.</i>	<i>MI/Ram.</i>	<i>MI/R+C</i>
<b><i>E/A-Ratio</i></b>	1,38 ± 0,06	1,95 ± 0,04 *	1,49 ± 0,05 #	1,48 ± 0,05 #	1,46 ± 0,03 #
<b><i>DeccT (ms)</i></b>	54 ± 5,9	40 ± 4,5 *	47,5 ± 3,8	51 ± 2,9	49,4 ± 2,9

Tab. 9: E/A-Ratio und Dezelerationszeit der frühdiastolischen Füllungswelle **1, 3 und 8 Wochen p.op.**; (Angaben: Mittelwert ± SEM; \*: p<0,05 vs. Scheinoperiert; #: p<0,05 vs. MI/Kontrolle)

#### 4.2.3 Körper-, Herz- und Ventrikelgewichte

Zu Studienbeginn betrug das mittlere Körpergewicht (KG) der Kaninchen  $2,69 \pm 0,06$  kg. Sowohl hier als auch in der dritten Woche bestanden keine signifikanten Unterschiede in den Körpergewichten zwischen den einzelnen Gruppen. Bei der Abschluss-Untersuchung in der neunten Woche war das KG der MI/Kontrollgruppe ( $3,07 \pm 0,12$  kg) signifikant gegenüber der scheinoperierten Gruppe ( $3,44 \pm 0,11$  kg) erhöht (p<0,05). Die mittleren Gewichte der behandelten Gruppen MI/Car. ( $3,32 \pm 0,11$  kg), MI/Ram. ( $3,28 \pm 0,13$  kg) und MI/Ram.+Car. ( $3,24 \pm 0,09$  kg) unterschieden sich weder untereinander noch zur MI/Kontrollgruppe signifikant.

Die Herzgewichte aller infarzierten Gruppen waren signifikant erhöht gegenüber denen der Scheinoperierten. In geringerem Maße bewirkten die jeweiligen

Behandlungen mit Ramipril und Cariporide eine Verringerung des Herzgewichts, was die Kombinationsbehandlung jedoch wesentlich besser erreichte.

Das Gewicht des linken Ventrikels (LV) war in der MI/Kontrollgruppe ( $5,85 \pm 0,41$  g) signifikant gegenüber der Scheinoperierten-Gruppe ( $4,89 \pm 0,12$  g) erhöht ( $p < 0,05$ ). Hier konnte sowohl die Behandlung mit Cariporide ( $5,64 \pm 0,3$  g), als auch die mit Ramipril ( $5,18 \pm 0,29$  g) eine Verringerung der linksventrikulären Gewichtszunahme bewirken. Die Kombination der beiden ( $4,85 \pm 0,23$  g) normalisierte diesen Wert sogar.

Das Verhältnis Herzgewicht zu Körpergewicht (HG/KG) war in der MI/Kontrollgruppe signifikant gegenüber der Scheinoperierten-Gruppe erhöht. Dies konnte durch die alleinige Behandlung mit Cariporide und Ramipril wieder herabgesetzt werden, aber auch die Kombinationstherapie führte zu einer Absenkung dieses Parameters.

Bezüglich des Verhältnisses linker Ventrikel zu Körpergewicht (LV/KG) zeigte sich ein signifikanter Anstieg des Parameters in den MI/Kontrolltieren gegenüber den Scheinoperierten. Dies konnte ebenfalls durch die alleinige Gabe von Cariporide, in geringerem Maße auch durch die Behandlung mit Ramipril verbessert werden, wohingegen die kombinierte Therapie sogar zu einer Normalisierung führte.

Schließlich ergab sich auch beim Verhältnis rechter Ventrikel (RV/KG) zu Körpergewicht ein signifikanter Anstieg der Werte der MI/Kontrollgruppe gegenüber den Scheinoperierten. Dies konnte signifikant durch die Behandlung mit Ramipril, aber auch durch die Gabe von Cariporide gesenkt werden. Am effektivsten und signifikant konnte der Parameter jedoch durch die Behandlung mit Cariporide und Ramipril in Kombination gesenkt werden. (Tab. 10)

	<b>HG (g)</b>	<b>HG/KG (g/kg)</b>	<b>LV/KG (g/kg)</b>	<b>RV/KG (g/kg)</b>
<b><i>Schein-OP</i></b>	8,01 ± 0,22	2,34 ± 0,08	1,43 ± 0,04	0,43 ± 0,03
<b><i>MI/Kontr.</i></b>	9,13 ± 0,30 *	2,90 ± 0,10 *	1,84 ± 0,10 *	0,68 ± 0,10 *
<b><i>MI/Car.</i></b>	9,31 ± 0,46 *	2,80 ± 0,08	1,70 ± 0,09 *	0,57 ± 0,07
<b><i>MI/Ram.</i></b>	9,02 ± 0,41 *	2,76 ± 0,11	1,58 ± 0,07 *	0,53 ± 0,05 #
<b><i>MI/R+C</i></b>	8,87 ± 0,29 *	2,74 ± 0,11	1,57 ± 0,11 #	0,51 ± 0,04 #

Tab. 10: HG, HG/KG-Ratio, LV/KG-Ratio und RV/KG-Ratio der Gruppen Scheinoperiert, MI/Kontrolle, MI/Cariporide, MI/Ramipril und MI/Ram.+Car. **neun Wochen p.op.**; (Angaben: Mittelwert ± SEM; \*: p<0,05 vs. Scheinoperiert; #: p<0,05 vs. MI/Kontrolle)

#### 4.2.4 Ergebnisse der Hämodynamik

##### 4.2.4.1 Linksventrikulärer systolischer Druck

Alle fünf Gruppen wiesen untereinander signifikante Unterschiede im LVP auf. Der LVP der MI/Kontrollgruppe lag signifikant niedriger gegenüber dem der Scheinoperierten. Diese Absenkung konnte durch alle drei Behandlungs-Modi signifikant aufgehoben werden, am besten wirkte hier die Kombination aus Cariporide und Ramipril. (Tab. 11)

	<b><i>Schein-OP</i></b>	<b><i>MI/Kontr.</i></b>	<b><i>MI/Car.</i></b>	<b><i>MI/Ram.</i></b>	<b><i>MI/R+C</i></b>
<b><i>LVP (mmHg)</i></b>	107,7 ± 8,2	72,0 ± 4,6 *	93,5 ± 8,7 #	81,3 ± 5,5 #	98,4 ± 10,8 #

Tab. 11: Linksventrikulärer systolischer Druck (LVP) der Gruppen Scheinoperiert, MI/Kontrolle, MI/Cariporide, MI/Ramipril, MI/Ram.+Car. **neun Wochen p.op.**; (Angaben: Mittelwert ± SEM; \*: p<0,05 vs. Scheinoperiert; #: p<0,05 vs. MI/Kontrolle)

#### 4.2.4.2 Kontraktilität

Auch hier zeigten sich zwischen allen fünf Gruppen signifikante Unterschiede.

dP/dt (max) als Kontraktilitätsparameter und dP/dt (min) als Relaxationsparameter fielen in der MI/Kontrollgruppe ( $2416 \pm 359$  mmHg/sec;  $-2462 \pm 457$  mmHg/sec) signifikant unter die der Scheinoperierten-Gruppe ( $6196 \pm 324$  mmHg/sec;  $-5405 \pm 307$  mmHg/sec). Dieser Abfall konnte durch alle drei Behandlungsvarianten signifikant verbessert werden, wobei wiederum die Kombinationstherapie den besten Wert erzielte. (Tab. 12)

In Abb. 12 ist dP/dt max graphisch dargestellt.

	<i><b>Schein- OP</b></i>	<i><b>MI/Kontr.</b></i>	<i><b>MI/Car.</b></i>	<i><b>MI/Ram.</b></i>	<i><b>MI/R+C</b></i>
<i><b>dP/dt min (mmHg/sec)</b></i>	$-5405 \pm 307$	$-2462 \pm 457^*$	$-4211 \pm 431\#$	$-3732 \pm 262\#$	$-4263 \pm 850 \#$

Tab. 12: Maximale Druckabstiegsgeschwindigkeit (dP/dt min) **neun Wochen p.op.**; (Angaben: Mittelwert  $\pm$  SEM; \*:  $p < 0,05$  vs. Scheinoperiert; #:  $p < 0,05$  vs. MI/Kontrolle)

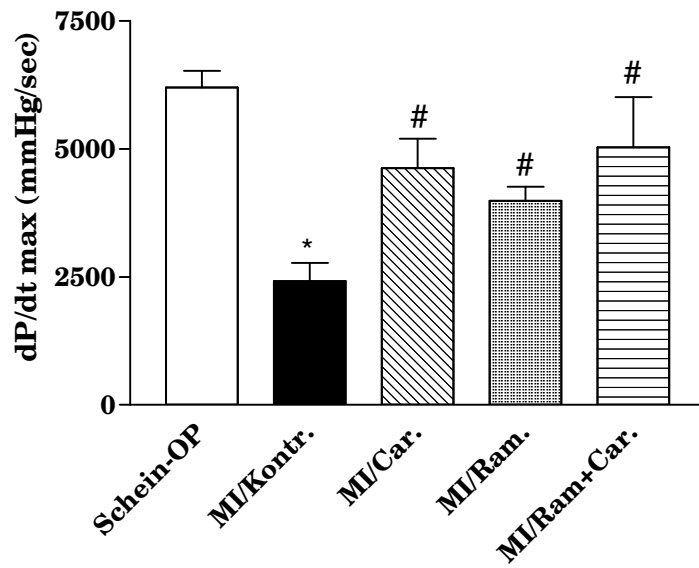


Abb. 12: Maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit (dP/dt max) **neun Wochen p.op.**; (Angaben: Mittelwert  $\pm$  SEM; \*:  $p < 0,05$  vs. Scheinoperiert; #:  $p < 0,05$  vs. MI/Kontrolle)

#### 4.2.4.3 LVEDP

Der linksventrikuläre enddiastolische Druck als ein Maß für die Relaxation lag in der MI/Kontrollgruppe ( $8,7 \pm 2,0$  mmHg) signifikant über dem der Scheinoperierten ( $4,0 \pm 0,5$  mmHg). Durch die Behandlung mit Ramipril ( $3,8 \pm 0,5$  mmHg) konnte dieser wieder normalisiert werden. Auch die Gabe von Cariporide ( $5,6 \pm 1,4$  mmHg) bzw. die Kombinationstherapie ( $4,2 \pm 1,5$  mmHg) führte zu einer Absenkung des Wertes. (Abb. 13)

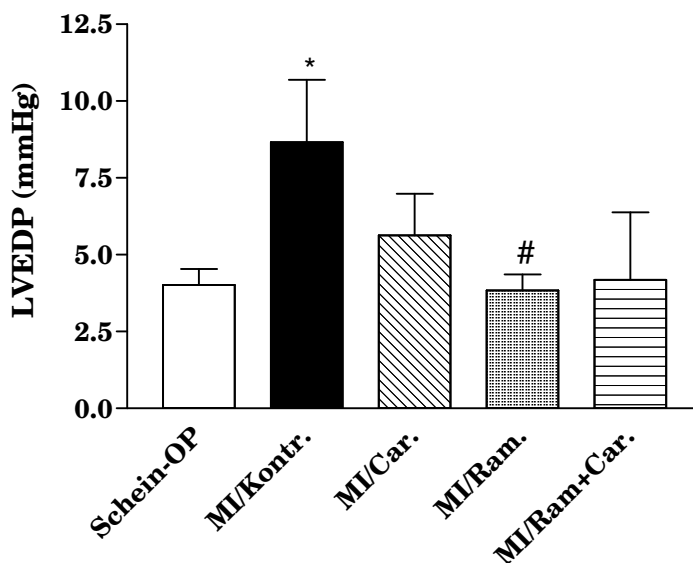


Abb. 13: Linksventrikulärer enddiastolischer Druck (LVEDP) **neun Wochen p.op.**; (Angaben: Mittelwert  $\pm$  SEM; \*:  $p < 0,05$  vs. Scheinoperiert; #:  $p < 0,05$  vs. MI/Kontrolle)

#### 4.2.4.4 Blutdruck und Herzfrequenz

Die Ergebnisse der Herzfrequenzmessung (HR) zeigten keine signifikanten Unterschiede der einzelnen Gruppen untereinander. Die mittleren Werte können der Tab. 13 entnommen werden.

Der mittlere systemische Blutdruck gemessen in der A. femoralis dextra lag in der MI/Kontrollgruppe signifikant niedriger als der der Scheinoperierten. Die alleinige Gabe von Ramipril führte sogar zu einer weiteren Absenkung des Parameters. Durch die Cariporide-Behandlung und deren Kombination mit



Ramipril konnte der Wert jedoch angehoben werden, wenn auch nicht signifikant. (Tab. 13)

	<i><b>Schein-OP</b></i>	<i><b>MI/Kontr.</b></i>	<i><b>MI/Car.</b></i>	<i><b>MI/Ram.</b></i>	<i><b>MI/R+C</b></i>
<i><b>BP mean (mmHg)</b></i>	95,7 ± 12,4	58,4 ± 6,9 *	75,7 ± 9,5	50 ± 7,5 *	68 ± 21,6
<i><b>HR (b./min)</b></i>	289 ± 9,9	275 ± 11,7	280 ± 7,6	277 ± 18,3	267 ± 19,4

Tab. 13: Herzfrequenz (HR) und mittlerer Blutdruck (BP) **neun Wochen p.op.**; (Angaben: Mittelwert ± SEM; \*: p<0,05 vs. Scheinoperiert)

#### 4.2.4.5 Aortenfluss

Der Aortenfluss in ml/min war in der MI/Kontrollgruppe am geringsten, jedoch konnte er durch die Behandlung mit Cariporide und auch mit Ramipril erhöht werden. Vor allem aber führte die Kombination der beiden zu einer Steigerung des Aortenflusses. (Tab. 14)

	<i><b>Schein-OP</b></i>	<i><b>MI/Kontr.</b></i>	<i><b>MI/Car.</b></i>	<i><b>MI/Ram.</b></i>	<i><b>MI/R+C</b></i>
<i><b>AF (ml/min)</b></i>	276 ± 19,1	247,3 ± 26,1	277,7 ± 20,1	270,3 ± 23,8	286,7 ± 58,7

Tab. 14: Aortenfluss (ml/min) **neun Wochen p.op.**; (Angaben: Mittelwert ± SEM)

#### 4.2.5 Infarktgrößen

Die planimetrische Infarktgrößenbestimmung ergab keinen Einfluss der verschiedenen Behandlungs-Modi auf die Infarktgrößen: MI/Kontrolle ( $35,3 \pm 1,8\%$ ), MI/Cariporide ( $34,9 \pm 2,5\%$ ), MI/Ramipril ( $34,5 \pm 2,1\%$ ), MI/Ram.+Car. ( $34,9 \pm 2,2\%$ ).

In Abb. 14 sieht man einen aufgeschnittenen linken Ventrikel. Das hier sichtbare Infarktgebiet lag bei 33,8%.

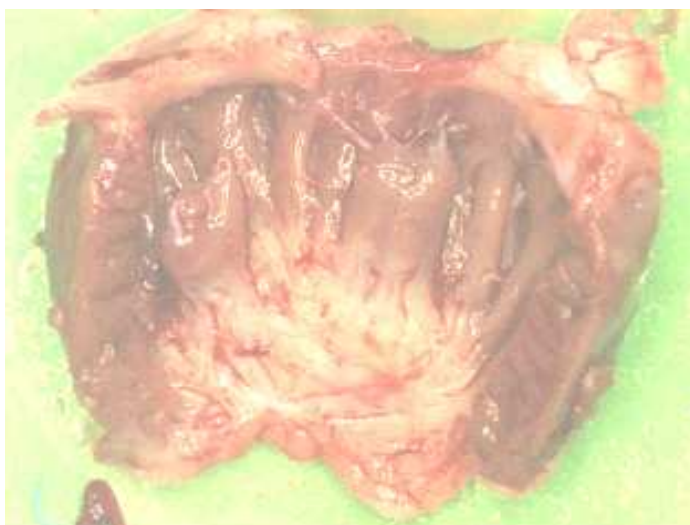


Abb. 14: Infarzierter linker Ventrikel nach 9 Wochen (Bsp.)

#### 4.2.6 Plasmabestimmungen

##### 4.2.6.1 Aldosteron

Der mittlere Wert der Aldosteron-Plasmakonzentration lag in der MI/Kontrollgruppe über dem der Scheinoperierten, jedoch nicht signifikant. Diese Erhöhung konnte durch alle drei Behandlungs-Modi verhindert werden. (Tab. 15)

##### 4.2.6.2 proANP

Der durchschnittliche Wert der proANP-Plasmakonzentration der MI/Kontrollgruppe lag signifikant über dem der Scheinoperierten. Dieser Wert

konnte vor allem durch die Gabe von Cariporide, nicht jedoch durch die Ramipril-Behandlung verbessert werden. Ebenso führte die kombinierte Behandlung zu einer Verbesserung des Parameters. (Tab. 15)

	<i><b>Schein-OP</b></i>	<i><b>MI/Kontr.</b></i>	<i><b>MI/Car.</b></i>	<i><b>MI/Ram.</b></i>	<i><b>MI/R+C</b></i>
<i><b>Aldosteron (pg/ml)</b></i>	477 ± 127,4	604 ± 133,1	394 ± 97,6	530 ± 67,8	401 ± 87,8
<i><b>proANP (fmol/ml)</b></i>	2418 ± 810	3864 ± 595 *	3142 ± 626	4219 ± 1267	2961 ± 523

Tab. 15: Aldosteron- und proANP-Plasmaspiegel **neun Wochen p.op.**; (Angaben: Mittelwert ± SEM; \*: p<0,05 vs. Scheinoperiert)

## **5. Diskussion**

Trotz neuer medikamentöser und interventioneller Therapiemöglichkeiten führen der Myokardinfarkt sowie die Herzinsuffizienz nach wie vor die Mortalitätsstatistiken in den USA und Europa an. Vor allem die verbesserte Therapie und damit verbunden eine höhere Überlebensrate der Patienten mit Myokardinfarkt lassen die Herzinsuffizienzrate progressiv ansteigen. Umso wichtiger ist daher eine Optimierung der Therapiestrategien. Die bisherigen Ziele umfassen dabei nicht die direkte Kardioprotektion, welche jedoch ein wichtiger Faktor sowohl nach Myokardinfarkt als auch im Sinne einer konsekutiven Herzinsuffizienzentwicklung ist. Vor diesem Hintergrund sollte in dieser Arbeit das kardioprotektiv wirkende Cariporide untersucht werden. Cariporide gehört zur Gruppe der  $\text{Na}^+\text{-H}^+$ -Austauscher-Inhibitoren. Es hemmt spezifisch den NHE vom Subtyp 1 (NHE1-Inhibitoren).

In den beiden Studien der vorliegenden Arbeit konnte ich zeigen, dass zum einen nach Ischämie und während langer Reperfusionszeit die NHE1-Inhibition zu einer signifikanten Verbesserung morphologischer, systolischer und diastolischer Parameter führte und zudem die Infarktgrößen wesentlich verringerte. Zum anderen zeigte sich in der Herzinsuffizienz-Studie, dass auch hier die NHE1-Hemmung zu einer signifikanten Verbesserung morphologischer, systolischer und diastolischer Parameter führte, jedoch ohne hierbei die Infarktgröße zu beeinflussen.

### **5.1 Einfluss von Cariporide auf das infarzierte und reperfundierte Herz**

#### **5.1.1 Einfluss von Cariporide auf die Morphologie und Funktion des infarzierten und reperfundierten Herzens**

In dieser Studie konnte sowohl nichtinvasiv mittels Echokardiografie, als auch invasiv per Herzkatheter eine positive Beeinflussung der strukturellen und funktionellen pathologischen Veränderungen des linken Ventrikels sowohl durch die Cariporide-Bolusgabe als auch durch die zusätzliche Verfütterung der Substanz gezeigt werden.

In der echokardiografischen Untersuchung zeigten beide mit Cariporide behandelten Gruppen bereits nach der ersten Woche, vor allem aber nach der

vierten Woche der Reperfusion eine starke Verringerung bzw. teilweise Aufhebung der Ventrikeldilatation. Diese war im Vergleich in der unbehandelten I/R-Gruppe vor allem nach vier Wochen stark vorangeschritten.

In Korrelation zu diesen Daten standen zum Ende des Versuchs auch die Gewichte der linken Ventrikel und der Herzen. Das durchschnittliche linksventrikuläre Gewicht konnte bereits durch die singuläre Cariporide-Bolusgabe im Vergleich zur I/R-Gruppe gesenkt werden. Das mittlere Herzgewicht der Cariporide-Bolusgruppe und auch der Gruppe mit zusätzlicher Verfütterung lag ebenfalls unter dem der I/R-Gruppe.

Die in dieser Studie ermittelten positiven Effekte von Cariporide auf die strukturellen Veränderungen des Herzens während vierwöchiger Reperfusion im Tierexperiment wurden bisher in der Literatur nicht beschrieben. Jedoch konnten ähnliche Ergebnisse in klinischen Studien gezeigt werden. Die Arbeitsgruppe um Rupprecht (Rupprecht et al., 2000) konnte beispielsweise bei Patienten nach PTCA mit vorheriger Bolusgabe von Cariporide 21 Tage später niedrigere endsystolische Flächen und regional verbesserte Wandbewegungen zeigen.

Auch die Ermittlung der funktionellen Parameter bewies die therapeutische Wirksamkeit der NHE1-Inhibition in dieser Studie. Die echokardiografisch ermittelte Verkürzungsfraction, ein Parameter der systolischen Funktion, war nach vier Wochen in den infarzierten, unbehandelten Tieren signifikant verschlechtert. Demgegenüber waren beide mit Cariporide behandelten Gruppen signifikant besser. Dies bestätigte auch die abschließende hämodynamische Untersuchung mittels Herzkatheter. Hier deutete sowohl die signifikante Erhöhung der maximalen Druckentwicklung als auch die signifikante Verbesserung der maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit ( $dp/dt \max$ ) unter beiden Modi der Cariporide-Gabe auf eine erhebliche Verbesserung der linksventrikulären systolischen Funktion hin.

Ebenso war die E/A-Ratio, ein die diastolische Füllungsphase darstellender Parameter der Echokardiografie, sowohl nach der ersten als auch nach vier Wochen in beiden behandelten Gruppen gegenüber den unbehandelten Tieren hochsignifikant verbessert. Die positive Beeinflussung der Diastole durch Cariporide zeigte sich auch in der abschließenden Herzkatheterisierung. Hier

war die maximale Druckabfallsgeschwindigkeit ( $dp/dt$  min) in beiden Cariporide-Gruppen in nahezu gleichem Maße signifikant verbessert verglichen mit der signifikant verschlechterten diastolischen Funktion der I/R-Gruppe.

Nach allen drei Stimulationen der Herzen mit Isoproterenol blieb die signifikant verschlechterte diastolische und systolische Funktion der unbehandelten I/R-Gruppe verglichen mit der Kontrollgruppe bestehen. Dies konnte durch beide Modi der Cariporide-Gabe ebenfalls nach allen drei Stimulationen verbessert werden, größtenteils sogar signifikant.

Die Wirksamkeit von Cariporide besteht darin, dass die durch Ischämie entstehende Natrium-Überladung der Zelle, die letztendlich zu einer konsekutiven Kalzium-Überladung intrazellulär führt (siehe S.35), verhindert wird. Dies hat zur Folge, dass durch die erhöhte Kalzium-Konzentration entstehende Schäden wie Zellnekrosen, Hyperkontraktilität und Arrhythmien größtenteils unterbunden werden. Da der NHE hauptsächlich in der Ischämie-Phase und zu Beginn der Reperfusion aktiviert wird, ist eine frühestmögliche Inhibition indiziert. Dies ist darin begründet, dass der NHE1 vornehmlich durch den fallenden pH während der Anfangsphase der Ischämie stimuliert wird. Obwohl tierexperimentelle Daten einen NHE-abhängigen  $Na^+$ -Influx auch zu Reperfusionsbeginn zeigen (van Emous et al., 1998), ist der kritischere Faktor die ischämische Phase. Dies bestätigt sich auch aufgrund Daten tierexperimenteller Studien. Die Mehrheit der Studien nämlich zeigt, dass eine Kardioprotektion hauptsächlich von der NHE1-Hemmung im ischämischen Myokard herrührt (Karmazyn, 1988; Garcia-Dorado et al., 1997; Shimada et al., 1996; Klein et al., 2000).

Positive Kurzzeit-Effekte von NHE1-Inhibitoren, einschließlich Cariporide, auf die kardiale Funktion sind bereits von diversen Arbeitsgruppen in kleinen Tieren bzw. am isolierten Herzen während Ischämie/Reperfusion dokumentiert worden (Pike et al., 1993; Hendrix et al., 1994; Schaefer et al., 1997; Hartmann et al., 1999; Portman et al., 2001). Die Mehrheit der Studien überschreitet jedoch die 24 Stunden der Reperfusion nicht. Klein et al. zeigten am Schwein nach 24-stündiger Reperfusion eine verbesserte systolische Verkürzung und somit verbesserte systolische Funktion durch Cariporide-Gabe (Klein et al., 1995). Auch auf klinischer Ebene konnte abermals die Arbeitsgruppe von Rupprecht et

al. (Rupprecht et al., 2000) nicht nur eine Verbesserung morphologischer, sondern auch funktioneller Parameter zeigen. 21 Tage nach PTCA wiesen die Patienten mit Cariporide-Bolusgabe eine höhere Auswurffraktion und ein reduziertes enddiastolisches bzw. endsystolisches Volumen auf.

### **5.1.2 Einfluss von Cariporide auf die Plasmaspiegel von Ck und proANP**

Die Plasmaspiegel von Ck und proANP konnten teilweise signifikant durch beide Modi der Cariporide-Behandlung abgesenkt werden. 15 Min. post Reperfusionsbeginn zeigte sich bereits ein signifikanter Anstieg der Ck in der I/R-Gruppe gegenüber der Kontrollgruppe. Dies konnte signifikant sowohl durch die alleinige Bolusgabe, als auch durch die zusätzliche Verfütterung verbessert werden. Nach vier Wochen lagen die Ck-Werte der I/R-Gruppe nach wie vor weit über denen der Kontrolltiere, wobei hier anzumerken ist, dass der Zeitpunkt der Blutentnahme zur Ck-Bestimmung, i.e. post Abschluss-OP, nicht optimal gewählt wurde. Dennoch führte vor allem die singuläre Bolusgabe der Substanz, aber auch die Kombination mit der Verfütterung zu einer Verbesserung der Werte. Dies korreliert wiederum mit den Ergebnissen von Rupprecht et al., welche eine signifikante Reduktion der Ck-Freisetzung in den Cariporide-Patienten zeigten (Rupprecht et al., 2000). In Korrelation dazu konnte die Arbeitsgruppe um Zeymer am Menschen nach Myokardinfarkt und erfolgreicher Reperfusionstherapie verringerte Ck-MB-Werte nach Gabe von verschiedenen Dosierungen des NHE1-Inhibitors Eniporide zeigen (Zeymer et al., 2001).

Auch die Bestimmung der proANP-Konzentration vier Wochen post Ischämie zeigte einen signifikanten Anstieg des mittleren Wertes der I/R-Gruppe gegenüber der Kontrollgruppe. Dies stellt einen zuverlässigen Hinweis bezüglich der linksventrikulären Dilatation dar, welche vor allem in der MI/Kontrollgruppe im Herzultraschall gesehen wurde. Auch hier bewies die Absenkung des Wertes in beiden Cariporide-Gruppen, in der Bolus-Gruppe sogar signifikant, eine therapeutische Wirksamkeit der Substanz. Dies konnte durch eine in der echokardiografischen Untersuchung festgestellte Verringerung der Dilatation bestätigt werden.

Ergebnisse von anderen Herzinsuffizienzstudien, welchen der akute Myokardinfarkt zugrunde liegt, bestätigen ebenfalls, dass ANP sowohl in der frühen Insuffizienz-Phase (Volpe et al., 1991; Magri et al., 1998), als auch im weiteren Verlauf der Krankheit (Burnett et al., 1986; Saito et al., 1989; Volpe et al., 1993) erhöht ist und mit deren Schwere korreliert. Ebenso haben James und Kollegen einen Anstieg von BNP, gleichfalls ein Indikator der ventrikulären Ausdehnung bzw. Dysfunktion, in Patienten mit akutem Koronarsyndrom feststellen können. Sie zeigten, dass sowohl das Risiko eines folgenden Myokardinfarktes, als auch der Mortalität mit der Höhe der BNP-Werte korreliert (James et al., 2003).

Obwohl derzeit keine Ergebnisse bezüglich einer Senkung der ANP-Werte mittels NHE1-Inhibitoren in der Literatur beschrieben sind, zeigen doch Studien mit anderen Medikamenten deutliche Effekte. Hara et al. beispielsweise konnten in einer klinischen Studie eine signifikante Senkung des ANP- und BNP-Spiegels nach sechsmonatiger Gabe eines  $\beta$ -Blockers zeigen. Hierbei korrelierten die niedrigen ANP- und BNP-Werte ebenfalls mit einer echokardiografisch ermittelten verbesserten systolischen Funktion und verringerten Dilatation des linken Ventrikels (Hara et al., 2000). Ebenso belegten Studien am herzinsuffizienten Menschen eine ANP-Spiegel-Absenkung nach chronischer ACE-Inhibition (Ogino et al., 1997; Brunner La Rocca et al., 1999). Die Arbeitsgruppe um Ogino stellte dabei eine Verbesserung der systolischen Funktion des Ventrikels im Herzultraschall fest. Die Ergebnisse von Brunner La Rocca hingegen waren verbunden mit einer verbesserten körperlichen Belastbarkeit.

### **5.1.3 Einfluss von Cariporide auf die Infarktgrößen**

In dieser I/R-Studie konnte gezeigt werden, verglichen mit den Ergebnissen der Infarktgrößen der Herzinsuffizienz-Studie, dass eine erfolgreiche Reperfusion per se zu einer Verringerung der Infarktgröße führt. Dies wurde in anderen Studien ebenfalls festgestellt (GUSTO Angiographic investigators, 1993; ISIS-2 collaborative group, 1988). Der, wie oben erwähnt, trotz Reperfusion sich weiterentwickelnde ischämische Schaden konnte in meiner Studie durch die zusätzliche Therapie mit Cariporide verringert und hinmit eine weitere



Reduktion der Infarktgröße verzeichnet werden. Sowohl die singuläre Bolus-Gabe als auch die zusätzliche Verfütterung von Cariporide führte bei den Tieren zu einer etwa in gleichem Maße hochsignifikanten Reduktion der Infarktgröße verglichen mit der unbehandelten I/R-Gruppe.

Die Infarktgrößen-Reduktion durch Cariporide konnte bereits in vielzähligen Studien belegt werden. Miura et al. waren die ersten, die einen infarktreduzierenden Effekt von Cariporide am Kaninchen nach 30 minütiger Ischämie und dreistündiger Reperfusion feststellten (Miura et al., 1997). Jedoch wurde der Effekt exklusiv bei Gabe vor Ischämie, nicht jedoch vor Reperfusion, beobachtet. Auch die Arbeitsgruppe um Linz zeigte dosisabhängig eine bis zu 81%ige Reduzierung der Infarktgröße im gleichen Modell mit zweistündiger Reperfusion. Hier wurde sogar unter der höchsten Dosis (0,3 mg/kg) bei Gabe fünf Min. vor Reperfusion noch eine Infarktgrößen-Reduktion von 31% gesehen (Linz et al., 1998). Im Schweinmodell mit einer Reperfusionszeit von 24 Stunden konnten Klein und Kollegen eine wesentliche Infarktgrößen-Reduktion ebenfalls bei direkter Gabe vor Ischämie zeigen. Interessanterweise berichtete diese Arbeitsgruppe auch, dass während Ischämie mit geringem, aber permanentem Restblutfluss Cariporide sogar bei Gabe 15 Min. post Ischämie-Beginn noch die Infarktgröße verringert (Klein et al., 1997). Gleichfalls konnte die Arbeitsgruppe um Klein jedoch in einem ähnlichen Schweinmodell einige Zeit später zeigen, dass sich die Wirksamkeit von Cariporide vermindert, umso später es im Verlaufe der Ischämie verabreicht wird (Klein et al., 2000).

Neben den tierexperimentellen Studien konnten auch am Menschen mit akutem Koronarsyndrom und anschließender Reperfusion im GUARDIAN-Trial positive Effekte von Cariporide gezeigt werden. Die Subgruppe der Patienten, die sich einer Bypass-OP unterzogen (CABG-Subgruppe), also die klinische Situation von Ischämie/Reperfusion darstellend, wies unter der höchsten Dosierung von Cariporide eine erniedrigte Myokardinfarkt- und Mortalitätsrate auf (Theroux et al., 2000). Jedoch wurde in dieser Studie Cariporide als Dauerinfusion über 60 Min. alle acht Std. 2-7 Tage lang verabreicht, wohingegen sich in meiner Studie positive Ergebnisse bereits durch eine singuläre Bolus-Gabe der Substanz zeigten. Eine weitere klinische Studie mit dem NHE1-Inhibitor Eniporide

erhärtert die These, dass eine suffiziente Wirkung des Inhibitors nur bei Gabe vor Ischämie vorhanden ist. Patienten, die sich einer thrombolytischen Therapie oder PTCA unterzogen, wurde kurz vor oder noch mit Beginn während der Reperfusionstherapie Eniporide infundiert und letztendlich die Auswirkungen auf die Studienendpunkte Mortalität, Herzinsuffizienz, lebensbedrohliche Arrhythmien und Infarktgrößen untersucht. Hierbei ergaben sich jedoch keine benefiziären Effekte des Inhibitors auf die genannten Endpunkte der Studie (Zeymer et al., 2001).

Wie bereits erwähnt, trägt auch die zunehmend steigende Überlebensrate der Patienten nach Myokardinfarkt dazu bei, dass konsekutiv die Herzinsuffizienzrate zunimmt. Eine der wichtigsten Komponenten, die den Herzinsuffizienz-Prozess unterstützen, ist die initiale, maladaptive Hypertrophie nach myokardialer Schädigung. In diversen Studien konnte inzwischen belegt werden, dass der NHE1 auch am Zellwachstum bzw. an der Entwicklung der kardialen Hypertrophie und dem Remodelling beteiligt ist und somit zum Prozess der Herzinsuffizienz beitragen könnte. Daraus ergibt sich die Forderung, dass eine NHE1-Inhibition nicht nur alleine, sondern auch im Vergleich zu und in Kombination mit bereits bestehenden Standardtherapeutika der Herzinsuffizienz untersucht werden sollte.

Hierzu wurde in der folgenden Herzinsuffizienz-Studie der NHE1-Inhibitor Cariporide am permanent koronarligierten Kaninchen als alleiniges Therapeutikum und in Kombination mit dem ACE-Hemmer Ramipril untersucht. Ramipril gehört zur Klasse der ACE-Hemmer. Dieser stellt seit mehreren Jahren ein Standardtherapeutikum der chronischen Herzinsuffizienz dar.

Die Tiere erhielten 24 Stunden post op. für neun Wochen Cariporide über das Futter und Ramipril im Trinkwasser.

## **5.2 Einfluss von Cariporide, Ramipril und deren Kombination auf das insuffiziente Herz**

### **5.2.1 Einfluss von Cariporide, Ramipril und deren Kombination auf die Morphologie des insuffizienten Herzens**

In der vorliegenden Studie zeigte sich eine teilweise deutliche Verbesserung der pathologisch veränderten Ventrikel-Morphologie durch sowohl die alleinige Cariporide- bzw. Ramipril-Behandlung als auch durch deren Kombination. Die Messungen zur Morphologie fanden hier wie in der I/R-Studie nichtinvasiv per Echokardiografie statt.

Die echokardiografischen Messungen zeigten im Verlauf der Studie bereits nach einer Woche eine moderate Ventrikelvergrößerung enddiastolisch und endsystolisch in allen infarzierten Gruppen verglichen mit den Scheinoperierten. Eine geringfügige Verbesserung dieser leichten Dilatation konnte zu diesem Zeitpunkt bereits die Kombination aus Cariporide und Ramipril erreichen. In der dritten postoperativen Woche entwickelte sich eine in allen infarzierten Gruppen gegenüber den Scheinoperierten signifikante Dilatation des linken Ventrikels. In den behandelten Gruppen war diese jedoch nicht so weit vorangeschritten wie in der MI/Kontrollgruppe. Während in dieser Gruppe die Dilatation des infarzierten Ventrikels bis hin zur achten Woche progressiv zunahm, war dieser Prozess jedoch in der Cariporide- und Ramiprilgruppe durch die Behandlung stark verlangsamt. Die Kombination der beiden Therapeutika bewirkte sogar, dass die Ventrikel ab der dritten Woche nicht weiter dilatierten und in der achten Woche signifikant kleiner waren als jene der MI/Kontrollgruppe.

Eine trotz Therapie sich entwickelnde signifikante Ventrikeldilatation der Gruppen gegenüber der Scheinoperierten ist im Remodelling bzw. in der Narbenbildung am infarzierten Ventrikel begründet. Es kommt konsekutiv zu Wandverdünnungen und -ausweitungen mit einhergehender Volumenzunahme. Die positive Beeinflussung der Ventrikel-Morphologie spiegelte sich teilweise auch in den zu Studienende bestimmten mittleren Gewichten der linken Ventrikel und Herzen wieder. Die linksventrikulären Gewichte der behandelten Gruppen waren geringer als jene der MI/Kontrollgruppe. Zu einem sogar signifikant geringeren Gewicht führte, in Korrelation zu den Daten des

Herzultraschalls, die kombinierte Behandlung mit Cariporide und Ramipril. Dem entsprachen auch die mittleren Herzgewichte, die ebenfalls in der Kombinations-Gruppe am geringsten waren. Wurden die Parameter in Verhältnis zum Körpergewicht gesetzt, zeigte sich beim Verhältnis linker Ventrikel zu Körpergewicht unter allen drei Behandlungen eine Verbesserung, unter der Kombination war diese sogar signifikant. Auch das Verhältnis Herzgewicht zu Körpergewicht war in allen behandelten Gruppen etwa in gleichem Maße verbessert verglichen mit der MI/Kontrollgruppe, wobei abermals die Cariporide/Ramipril-Behandlung den geringsten Wert aufwies.

Die Vergrößerung der linksventrikulären Dimensionen drückt die einsetzende Dilatation bei beginnender Dekompensation der Herzinsuffizienz aus. Dies konnte sowohl bereits im Tierexperiment (Pennock et al., 1997), als auch in humanen Studien (Chalmers et al., 1987) mittels Echokardiografie gezeigt werden.

Wie bereits erwähnt, wird der NHE1 ebenfalls mit kardialen Zellwachstum in Verbindung gebracht. Es wird angenommen, dass der Austauscher dabei durch mechanische Dehnungsreize (Druck-Volumen-Überladung) bzw. konsekutiv über verschiedene 'hypertrophische Faktoren' wie  $\alpha_1$ -adrenerge Agonisten (Yokoyama et al., 1998), Endothelin-1 (Khandoudi et al., 1994), Angiotensin II (Gunasegaram et al., 1999) und Thrombin (Glembotski et al., 1993) aktiviert wird. Diese Aktivierung findet über die Phosphorylierung der zytoplasmatischen Domäne mittels Protein Kinase C statt (Sardet et al., 1989). Weiterhin wird vermutet, dass jene Dehnungsreize in Assoziation stehen mit der Aktivierung verschiedener weiterer Mediatoren. Hierzu zählen Inositol-Triphosphat, Protein Kinase C, Raf-1 Kinase und mitogen aktivierte Protein (MAP) Kinase, welche zur Reexpression verschiedener fetaler Gene assoziiert mit kardialer Hypertrophie führen (Hefti et al., 1997). Diesbezüglich konnte die Arbeitsgruppe um Takewaki an neonatalen Ratten-Kardiomyozyten eine Abschwächung des durch Dehnungsreize vermittelten MAP Kinasen-Anstiegs und der Proteinsynthese mit konsekutiver Hypertrophie nach Behandlung der Zellen mit dem NHE1-Inhibitor Hoe 694 zeigen (Takewaki et al., 1995).

Die in der vorliegenden Arbeit festgestellten Effekte der NHE1-Inhibition auf die pathologisch veränderte Morphologie in der Herzinsuffizienz stimmen mit Ergebnissen einiger anderer Studien am Versuchstier überein. Yoshida und Karmazyn zeigten im Rattenmodell nach einwöchiger Koronarokklusion bereits erhöhte Zelllängen und -flächen, sowie erhöhte Herzgewichte. Bei Tieren mit Cariporide-Behandlung waren diese Veränderungen verringert (Yoshida & Karmazyn, 2000). Dies korreliert mit dem ebenfalls erniedrigten mittleren Herzgewicht der behandelten Tiere in meiner Studie. Ähnliche Ergebnisse im Rattenmodell nach 13-15 wöchiger Okklusion zeigte die Arbeitsgruppe um Kusumoto. Durch die Cariporide-Verfütterung konnte sogar bei Tieren mit großem Infarkt eine Ventrikeldilatation vermindert werden (Kusumoto et al., 2001). Wie oben bereits erwähnt, kommt es im Rahmen der Herzinsuffizienz zur  $\beta_1$ -adrenergen Stimulation, was den Remodelling-Prozess unterstützt. Engelhardt et al. postulierten diesbezüglich, dass der NHE1 unter anderem als Mediator der  $\beta_1$ -adrenergen Stimulation fungiert und untersuchten in ihrem Modell an  $\beta_1$ -adrenergen Rezeptor-Mäusen die Wirkung von Cariporide. Nach acht Monaten zeigte sich unter Behandlung mit dem NHE1-Inhibitor eine erheblich geringere Hypertrophie und interstitielle Fibrose der linksventrikulären Wand als bei den Kontrolltieren (Engelhardt et al., 2002). Auch die Verbesserung der morphologischen Parameter durch ACE-Inhibition konnte in diversen Infarktstudien an der Ratte gezeigt werden (Pfeffer et al., 1985). Weiterhin konnten die am Versuchstier gesammelten Erkenntnisse durch klinische Studien am herzinsuffizienten Menschen bestätigt werden. In der SAVE und CONSENSUS Studie konnte belegt werden, dass ACE-Hemmer den Prozess der progredienten Ventrikelausweitung verlangsamen können (The CONSENSUS Trial Study Group, 1987; Pfeffer et al., 1992).

### **5.2.2 Einfluss von Cariporide, Ramipril und deren Kombination auf die Funktion des insuffizienten Herzens**

Die linksventrikuläre Funktion wurde nicht nur mittels Echokardiografie während des Verlaufs der Studie, sondern auch abschließend invasiv per Herzkatheterisierung ermittelt.

Im Herzultraschall zeigte sich, dass bereits eine Woche p.op. die systolischen und diastolischen Funktionsparameter der infarzierten Tiere schlechter als jene der Scheinoperierten waren. Eine verbesserte systolische Funktion konnte nach drei und weiterhin auch nach acht Wochen unter alleiniger Cariporide- und Ramipril-Gabe wie auch unter ihrer Kombination ausgemacht werden. Sowohl das Herzzeitvolumen als auch das Fractional Shortening (FS), die wandspannungsabhängige zirkumferentielle Verkürzungsgeschwindigkeit (Vcf) und die mittlere Auswurffraktion (EF) als Parameter der Systole waren jedoch zu den Messzeitpunkten in der Cariporide-Gruppe besser als bei den ramipril-behandelten Tieren. Die Kombination der beiden war vor allem in der dritten Woche, teils auch in der achten beiden Einzel-Behandlungen überlegen. Bei der abschließenden Herzkatheterisierung jedoch kristallisierte sich eine deutliche Überlegenheit der kombinierten Behandlung in der systolischen Funktion gegenüber den beiden anderen Therapie-Modi heraus. Im Vergleich zu den signifikant verschlechterten Werten der MI/Kontrollgruppe konnte die kombinierte Therapie die linksventrikuläre Druckentwicklung und die Kontraktilität am besten erhalten.

Auch die E/A-Ratio, ein wie oben beschriebener Parameter des diastolischen Füllungsmusters, war durch die Cariporide-Gabe in etwa gleichem Maße signifikant verbessert wie unter der Ramipril-Therapie, jedoch zeigte sich abermals in der achten Woche eine deutlich signifikante Verbesserung vor allem durch die Kombination der beiden. Dies konnte durch die abschließende Invasiv-Messung belegt werden. Hier war die maximale Druckabstiegsgeschwindigkeit in der Cariporide/Ramipril-Gruppe am effektivsten gegenüber den unbehandelten Infarkttieren verbessert, was auf eine hierdurch insgesamt verbesserte diastolische Relaxation hindeutet.

Über die therapeutischen Effekte von Cariporide auf die linksventrikuläre Funktion liegen auch in der Literatur verschiedene Daten vor. Yoshida und Karmazyn zeigten im Experiment an der Ratte, dass die Gabe von Cariporide bei durch Koronarligatur induzierter Herzinsuffizienz bereits nach einer Woche zu einer Verbesserung hämodynamischer Parameter wie Kontraktilität und linksventrikulärer enddiastolischer Druck führte (Yoshida & Karmazyn, 2000). Ähnliche Ergebnisse ebenso an der Ratte 13-15 Wochen nach Koronarligatur

erhielten Kusumoto et al. Die Behandlung mit Cariporide erzielte eine Erhöhung des bei den unbehandelten Infarkttieren abgesunkenen linksventrikulären Drucks und der Kontraktilität. Weiterhin zeigten sie einen erheblichen Anstieg des linksventrikulären enddiastolischen Drucks in der unbehandelten Infarktgruppe, was durch die Cariporide-Gabe wesentlich verringert werden konnte. Zusätzlich untersuchten sie den Effekt des NHE1-Inhibitors auf Druck-Volumen-Schleifen, ein Index des linksventrikulären Volumens in der Diastole, die bei den unbehandelten Tieren mit Infarkt im Diagramm nach rechts verschoben erschienen. Die Gabe von Cariporide führte gerade bei Tieren mit großem Infarkt zu einer Abschwächung dieses Prozesses (Kusumoto et al., 2001). Die positive Beeinflussung der gestörten systolischen Funktion durch ACE-Inhibitoren konnte auch in anderen Tierexperimenten bewiesen werden. Diverse Arbeitsgruppen beispielsweise zeigten, dass die chronische Verabreichung von ACE-Hemmern in einer durch Koronarligatur in der Ratte erzeugten Herzinsuffizienz hämodynamische Parameter signifikant verbessert (Pfeffer et al., 1985; Wollert et al., 1994; Mulder et al., 1997).

Ebenfalls günstige Effekte auf die diastolische Funktion durch ACE-Hemmer konnten am Rattenmodell von Mulder et al. gezeigt werden. Hier demonstrierte die Arbeitsgruppe ein signifikantes Absenken des linksventrikulären enddiastolischen Drucks unter ACE-Inhibitoren-Gabe (Mulder et al., 1997).

Diese Ergebnisse korrelieren mit Daten aus klinischen Studien. Die erste Studie diesbezüglich war die CONSENSUS I-Studie. Hier kam es durch die chronische Gabe von Enalapril zu einer Absenkung der Mortalität um 31% nach einem Jahr (Sleight, 2002). In der AIRE Studie (Acute Infarction Ramipril Efficacy) am Menschen nach akutem Myokardinfarkt führte die chronische Gabe von Ramipril zu einer hochsignifikanten Absenkung der Mortalität (AIRE Investigators, 1993). Weiterhin konnten auch andere ACE-Inhibtoren eine Absenkung der Mortalität und Hospitalisationsrate zeigen (SOLVD Investigators, 1992).

### **5.2.3 Einfluss von Cariporide, Ramipril und deren Kombination auf die Plasmaspiegel von Aldosteron und proANP**

Die Bestimmung der Plasmaspiegel von Aldosteron und proANP bestätigten auch auf Biomarker-Ebene die therapeutische Wirksamkeit von Cariporide alleine und

in Kombination mit dem ACE-Hemmer Ramipril. Die alleinige Gabe von Ramipril jedoch konnte zwar die erhöhten Aldosteron-Werte, nicht jedoch die proANP-Daten verbessern. Letzteres mag in der hohen Standardabweichung begründet sein.

Verglichen mit den unbehandelten Infarkttieren kam es durch die alleinige Cariporide-Gabe und durch die Kombination mit Ramipril in etwa gleichem Maße zu einer kompletten Normalisierung der Aldosteron-Werte. Da ACE-Hemmer die Aldosteron-Produktion nur vorübergehend supprimieren (sog. „Escape-Phänomen“), lagen die Werte der Ramipril-Gruppe wesentlich über denen der Cariporide-Gruppe und auch der kombinierten Gruppe. Dies konnte auch in der klinischen Studie von Ol'binskaia et al. belegt werden, die an Patienten mit Hypertension und chronischer ACE-Hemmer-Gabe nur in den ersten zwei Behandlungswochen ein Absenken der Aldosteron-Werte beobachteten (Ol'binskaia et al., 1995).

Derzeit sind in bezug auf NHE1-Inhibitoren in der Literatur keine Aussagen über Effekte auf Aldosteron-Plasmaspiegel zu finden. Jedoch bestätigen andere tierexperimentelle Studien, dass Aldosteron im insuffizienten Herz erhöht ist und an der Genese der Fibrosierungsreaktionen post Myokardinfarkt beteiligt ist (Silvestre et al., 1998; Silvestre et al., 1999). Cittadini und Kollegen konnten diesbezüglich an der herzinsuffizienten Ratte zeigen, dass eine Aldosteron-Rezeptorblockade die linksventrikuläre Dilatation verringert, die Funktion des Herzens verbessert und auch die interstitielle Fibrose vermindert (Cittadini et al., 2003).

Auch die in der MI/Kontrollgruppe signifikant erhöhten Plasmaspiegel des kardialen Markers proANP konnten durch beide Modi der Cariporide-Therapie, nicht jedoch durch die Ramipril-Gabe, gesenkt werden. Dies korreliert mit den Ergebnissen der Echokardiografie, wobei ebensowenig signifikant positive Effekte von Ramipril alleine auf die progrediente Ventrikeldilatation gesehen wurden.

Wie bereits oben erwähnt, existieren in der Literatur zur Zeit keine Daten über Untersuchungen von NHE1-Inhibitoren und korrelierende proANP-Spiegel. Jedoch ist mehrfach belegt, dass proANP in der Herzinsuffizienz erhöht ist und mit deren Schweregrad korreliert (s.o.).



### **5.3 Abschließende Betrachtung**

Aus den Ergebnissen beider Studien der vorliegenden Arbeit wird ersichtlich, dass einerseits der NHE1-Inhibitor auch post Infarkt noch ebenso gute Wirkung zeigte wie ein ACE-Hemmer als Standard-Therapeutikum. Andererseits wies der NHE1-Inhibitor auch positive Effekte sogar nach vier Wochen der Reperfusion auf, wobei eine einmalige Bolusgabe vor Ischämie hierfür ausreichte.

Im GUARDIAN-Trial wurde Cariporide am Menschen per Dauerinfusion verabreicht. Zieht man die Ergebnisse dieser klinischen Studie vergleichend heran, ergibt sich aus den Daten meiner Studie am ischämisch-reperfundierten Herzen die Folgerung, dass bereits die singuläre Bolus-Gabe von Cariporide ausreicht, um benefiziäre Effekte zu erzielen. Auch eine zusätzliche Verfütterung von Cariporide konnte in der vorliegenden Arbeit keine weiteren Effekte erlangen.

Ebenso beeinflusste Cariporide die Veränderungen am insuffizienten Herzen positiv. Durch die alleinige Gabe der Substanz konnte in meiner Studie eine gleichwertige Verbesserung der Parameter verglichen mit der alleinigen Ramipril-Gabe gezeigt werden. Durch die kombinierte Gabe der beiden wurde die Therapie sogar noch optimiert.

Im Gegensatz zu ACE-Hemmern und  $\beta$ -Blockern, Standardtherapeutika der Herzinsuffizienz-Therapie, sind die Effekte des NHE1-Hemmers blutdruckunabhängig und somit ein zusätzliches Kriterium bezüglich einer Therapieoptimierung.

## 6. Zusammenfassung

Der Myokardinfarkt ist eine der Haupttodesursachen in den westlichen Industrieländern unserer Zeit. Aufgrund der stets älter werdenden Bevölkerung und verbesserten Therapiemöglichkeiten des Myokardinfarktes steigt jedoch konsekutiv die Rate der Herzinsuffizienzinzidenz. Die Herzinsuffizienz zählt neben nicht beherrschbaren Rhythmusstörungen zu den Haupttodesursachen nach Myokardinfarkt. Trotz verbesserter Möglichkeiten der Diagnose und Therapie stellt auch sie somit eines der bedeutendsten Gesundheitsprobleme in den Industrienationen dar.

In dieser Arbeit sollten in zwei verschiedenen Modellen die Effekte eines NHE1-Inhibitors auf Morphologie und Funktion des Herzens untersucht werden. Fokus der ersten Studie waren die Effekte des NHE1-Inhibitors als einmalige Bolus-Gabe vor Ischämie/Reperfusion, verglichen mit einer zusätzlichen Verfütterung der Substanz während einer besonders langen Reperfusionsphase. Die zweite Studie sollte die Wirkungen des NHE1-Hemmers im direkten Vergleich zu einem Standardtherapeutikum, dem ACE-Hemmer, und in Kombination mit diesem in der Entwicklung der Herzinsuffizienz nach permanenter Koronarligatur untersuchen. Hierzu wurden im Verlauf beider Studien echokardiografische Untersuchungen sowie am Ende mittels Herzkatheter *in vivo* hämodynamische Untersuchungen durchgeführt. Es wurden dabei Parameter der Morphologie, sowie der systolischen und diastolischen Funktion zur Beurteilung herangezogen.

In der ersten Studie konnte eine teilweise deutliche Verminderung der Dilatation, eine Verbesserung der kardialen Funktion und eine Reduktion der Infarktgrößen festgestellt werden, wobei die alleinige Bolus-Gabe des NHE1-Inhibitors die Auswirkungen der I/R fast vollständig aufhob. Die zusätzliche Verfütterung von Cariporide erbrachte keinen zusätzlichen Effekt. Die Herzinsuffizienz-Studie zeigte durch die alleinige Gabe des NHE1-Hemmers eine Verbesserung sowohl der systolischen und diastolischen Funktion, als auch ein Verlangsamen der progressiven Umfangsvergrößerung des linken Ventrikels. Ähnlich positiv beeinflusste auch der bereits zur Standard-Therapie zählende ACE-Hemmer die Parameter der kardialen Morphologie und Funktion. Die Kombination aus beiden erzielte teilweise sogar noch bessere Werte. Die

Ergebnisse dieser Arbeit sprechen für eine positive Beeinflussung funktioneller und morphologischer Parameter in reperfundiertem Infarkt-Gewebe bereits durch eine singuläre Bolusgabe der Substanz vor Ischämie. Ebenso zeigen die Ergebnisse der Herzinsuffizienz-Studie eine positive Einflussnahme auf Herzmorphologie und -funktion des NHE1-Inhibitors sowohl alleine als auch in Kombination mit einem bereits standardisierten Therapeutikum der Krankheit. Diese tierexperimentellen Befunde decken sich weitgehend mit den Ergebnissen, die in anderen präklinischen und auch klinischen Studien bisher beobachtet wurden.

## 7. Summary

Myocardial infarction is one of the leading causes of death in western nations. Advances in medical treatment and management of myocardial infarction, improved survival rates and an aging population contribute to the tremendous increase in heart failure. Besides cardiac dysrhythmia, congestive heart failure ranks as the number one cause of death following myocardial infarction. Despite of improved possibilities of diagnosis and therapy, heart failure as well represents a serious public health problem in western nations.

The focus of this thesis was to investigate the effects of a NHE1-inhibitor on left ventricular morphology and function in two different rabbit models. Aim of the first study was to assess the effects of the NHE1-inhibitor when given as a singular bolus-shot prior to ischemia/reperfusion compared with an additional administration of the inhibitor via chow during long-term reperfusion. The focus of the second study was to investigate the effects of the NHE1-inhibitor in comparison to an ACE-inhibitor, which is a standard therapy in congestive heart failure, and secondly to draw comparisons between these two inhibitors and the combination of them in the development of congestive heart failure. During the course of the two studies I carried out the investigations by echocardiography and at the end I measured hemodynamics by catheterization. Throughout this I assessed morphological, systolic and diastolic functional parameters.

The first study showed a marked limitation of the ventricular enlargement, a mostly significant improvement of the cardiac function and a significant reduction of infarct size, while the single bolus treatment with the NHE1-inhibitor almost completely neutralized the consequences of ischemia/reperfusion. The additional administration of cariporide via chow produced no further effects.

The results of the second study demonstrated that the singular treatment with the NHE1-inhibitor attenuated left ventricular dilation and improved cardiac function. The ACE-inhibitor, standard therapy of CHF, had similar effects on parameters of cardiac morphology and function. In addition, the combination of the two showed even better results.

The findings of this work point to a beneficial effect of the NHE1-inhibitor on cardiac functional and morphological parameters in the ischemic and reperfused

cardiac tissue even when given as a single bolus. Furthermore, the results of the CHF-study as well show a positive influence of the NHE1-inhibitor on morphological and functional alterations when given solely or in combination with an ACE-inhibitor.

These experimental results in rabbits correlate to a great extent with results observed in other pre-clinical or clinical studies.

## 8. Literaturverzeichnis

**Abraham WT (2000).**  *$\beta$ -Blockers*

Arch Intern Med, 160: 1237-1247

**AIRE Study Investigators (1993).** *Effect of ramipril on mortality and morbidity of survivors of acute myocardial infarction with clinical evidence of heart failure*

Lancet, 342: 821-828

**Allen DG, Xiao XH (2000).** *Activity of the  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger contributes to cardiac damage following ischemia and reperfusion*

Clin and Exp Pharmacol and Physiol, 27: 727-733

**Antiplatelet Trialists' Collaboration (1994).** *Collaborative overview of randomised trials of antiplatelet therapy- II. Maintenance of vascular graft or arterial patency by antiplatelet-therapy*

BMJ, 308: 159-168

**Antman EM, Giugliano RP, Gibson CM, et al. (1999).** *Abciximab facilitates the rate and extent of thrombolysis: results of the Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) 14 trial*

Circulation, 99: 2720-2732

**Antoniucci A, Santoro G, Bolognese L, Valenti R, Trapani M, Fazzani P (1998).** *A clinical trial comparing primary stenting of the infarct-related artery with optimal primary angioplasty for acute myocardial infarction. Results from the FRESCO trial*

J Am Coll Cardiol, 31: 1234-1239

**Anversa P, Kajstura J, Olivetti G (1996).** *Myocyte death in heart failure*

Current Opinion Cardiol, 11: 245-251

**Aronson PS (1985).** *Kinetic properties of the plasma membrane  $\text{Na}^+\text{-H}^+$  exchanger*

Annu Rev Physiol, 47: 545-560

**Baid MK, Mahon N, McKenna WJ, Caforio ALP, Bonow RO, Francis GS, Gheorghiade M (1998).** *The pathophysiology of advanced heart failure*

Am Heart J, 135: 216-230

**Becker BF, Heindl B, Kupatt C, Zahler S (2000).** *Endothelial function and hemostasis*

Z Kardiol, 89: 160-167

**Beltrami CA, Finato N, Rocco M, Feruglio GA, Puricelli C, Cigola F, et al. (1995).** *The cellular basis of dilated cardiomyopathy in humans*

Cardiol, 27: 291-305

**Beuckelmann DJ, Näbauer M, Erdmann E (1992).** *Intracellular calcium handling in isolated ventricular myocardium*

Circulation, 85: 1046-1055

**Black SC (2000).** *In vivo models of myocardial ischemia and reperfusion injury. Application to drug discovery and evaluation*

J of Pharmacol and Toxicol Methods, 43: 153-167

**Böhm M (2002).** *Pathophysiology of chronic heart failure today*

Herz, 27: 75-91

**Böhm M, Beuckelmann D, Brown L (1988).** *Reduction of  $\beta$ -adrenoceptor density and evaluation of positive inotropic responses in isolated, diseased human myocardium*

Eur Heart J, 9: 844-52

**Boersma E, Maas ACP, Deckers JW, Simoons ML (1996).** *Early thrombolytic treatment in acute myocardial infarction: reappraisal of the golden hour*  
Lancet, 348: 771-775

**Bolli R (2003).** *The role of sodium-hydrogen ion exchange in patients undergoing coronary artery bypass grafting*  
J Card Surg, 18 Suppl. 1: 21-6

**Brilla CG, Zhou G, Matsubara L, Weber KT (1994).** *Collagen metabolism in cultured adult rat cardiac fibroblasts: response to angiotensin II and aldosterone*  
J Mol Cell Cardiol, 26: 809-820

**Brown NJ, Vaughan DE (1998).** *Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors*  
Circulation, 97: 1411-1420

**Brunner La Rocca HP, Weilenmann D, Kiowski W, Maly FE, Candinas R, Follath F (1999).** *Within-patient comparison of effects of different dosages of enalapril on functional capacity and neurohumoral levels in patients with chronic heart failure*  
Am Heart J, 138: 654-662

**Bugge E, Ytrehus K (1995).** *Inhibition of sodium-hydrogen exchange reduces infarct size in the isolated rat heart - a protective additive to ischemic preconditioning*  
Cardiovasc Res, 29: 269-274

**Burnett JC, Kao PC, Hu DC, Heser DW, Heublein D, Granger JP, et al. (1986).** *Atrial natriuretic peptide elevation in congestive heart failure in the human*  
Science, 231: 1145-1147



**Camilion de Hurtado MC, Portiansky EL, Perez NG, Rebolledo OR, Cingolani HE (in press).** *Regression of cardiomyocyte hypertrophy in SHR following chronic inhibition of the Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> exchanger*

Cardiovasc Res

**Chalmers JP, West MJ, Cyran J (1987).** *Placebo-controlled study of lisinopril in congestive heart failure: a multicentre study*

J Cardiovasc Pharmacol, 9: S89-S97

**CIBIS-II Investigators and Committees (1999).** *The cardiac insufficiency bisoprolol study II: a randomised trial*

Lancet, 353: 9-13

**Cingolani HE, Alvarez BV, Ennis IL, Camilion de Hurtado MC (1998).** *Stretch induced alkalization of feline papillary muscle*

Circ Res, 83: 775-779

**Cittadini A, Monti MG, Isgaard J, Casaburi C, Strömer H, Di Gianni A, Serpico R, Saldamarco L, Vanasia M, Sacca L (2003).** *Aldosterone receptor blockade improves left ventricular fibrillation threshold in experimental heart failure*

Cardiovasc Res, 58: 555-564

**Colucci WS (1997).** *Molecular and cellular mechanisms of myocardial failure*

Am J Cardiol, 80: 15L-25L

**Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N (2000).** *Cardiac remodelling - concepts and clinical implications*

J Am Coll Cardiol, 35: 569-82

**Communal C, Singh K, Sawyer DB, Colucci WS (1999).** *Opposing effects of  $\beta_1$ - and  $\beta_2$ -adrenergic receptors on cardiac myocyte apoptosis*  
Circulation, 100: 2210-2

**Consensus trial study group (1987).** *Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure*  
N Engl J Med, 316: 1429-1435

**Cowie MR (2003).** *Estimating prognosis in heart failure: time for a better approach*  
Heart, 89: 587-588

**Darius H, Meyer J (2001).** *Medikamentöse Therapie nach Herzinfarkt*  
Der Internist, 42: 699-712

**Dell'Italia LJ, Meng QC, Balcells E, Wei CC, Palmer R, Hageman GR, Durand J, Hanks GH, Oparil S (1997).** *Compartmentalization of angiotensin II in the dog heart. Evidence for independent mechanisms in intravascular and interstitial spaces*  
J Clin Invest, 100: 253-258

**Denolin H, Kuhn H, Krayenbuehl HP, Loogen F, Reale A (1983).** *The definition of heart failure*  
Eur Heart J, 4 (7): 445-8

**Drexler H (1998).** *The endothelium as a therapeutic target in heart failure*  
Circulation, 98: 2652-2655

**Drexler H, Kastner S, Strobel A, Studer R, Brodde OE, Hasenfuss G (1998).** *Expression, activity and functional significance of inducible nitric oxide synthase in the failing human heart*

J Am Coll Cardiol, 32: 955-63

**du Toit EF, Opie L (1993).** *Role of  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger in reperfusion stunning in isolated perfused rat heart*

J Cardiovasc Pharmacol, 22: H608-15

**Dzau JV, Re R (1994).** *Tissue angiotensin system in cardiovascular medicine: a paradigm shift?*

Circulation, 89: 493-498

**ECC Guidelines (2000).** *The era of reperfusion*

Circulation, 102: 1-172

**Eguchi S, Matsumoto T, Motley ED, Utsunomiya H, Inagami T (1996).** *Identification of an essential signalling cascade for mitogen-activated protein kinase activation by angiotensin II in cultured rat vascular smooth muscle cells*

J Biol Chem, 271: 14169-14175

**Engelhardt S, Hein L, Keller U, Klämbt K, Lohse MJ (2002).** *Inhibition of  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchange prevents hypertrophy, fibrosis, and heart failure in  $\beta_1$ -adrenergic transgenic mice*

Circ Res, 90: 814-819

**Erdos EG (1977).** *The angiotensin I converting enzyme*

Fed. Proc., 36: 1760-1765

**Erhardt LRW (1999).** *GUARD during ischemia against necrosis: (GUARDIAN) trial in acute coronary syndromes*

Am J Cardiol, 83: 23G-25G

**European Society of Cardiology/American College of Cardiology  
Committee for the redefinition of myocardial infarction (2000).**

*Myocardial infarction redefined. A consensus document of the Joint ESC/ACC for the redefinition of myocardial infarction*

Eur Heart J, 21: 1502-1513

**Fliegel L (2001).** *Regulation of myocardial  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger activity*

Basic Res Cardiol, 96: 301-305

**Forstermann U, Schmidt HH, Pollock JS, Sheng H, Mitchell JA, Warner TD, Nakane M, Murad F (1991).** *Isoforms of nitric oxide synthases. Characterization and purification from different cell types*

Biochem Pharmacol, 42: 1849-1857

**Francis GS, McDonald KM, Cohn JN (1993).** *Neurohumoral activation in preclinical heart failure. Remodeling and the potential for intervention*

Circulation, 87 (5 Suppl): IV90-96

**Fuchs M, Drexler H (2000).** *Pathophysiologie der chronischen Herzinsuffizienz*

Der Internist, 41: 93-104

**Fuller SJ, Gaitanaki CJ, Sugden PH (1990).** *Effects of catecholamines on protein synthesis in cardiac myocytes and perfused heart isolated from adult rats*

Biochem J, 266: 727-736

**Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, et al. (1992).** *The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes*

N Engl J Med, 326: 242-250, 310-318

**Garcia-Dorado D, Gonzalez MA, Barrabes JA, et al. (1997).** *Prevention of ischemic rigor contracture during coronary occlusion by inhibition of Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> exchange*

Cardiovasc Res, 35: 80-89

**Genth-Zotz S, Zotz R, Sigmund M, et al. (2000).** *MIC trial: metoprolol in patients with mild to moderate heart failure: effect on ventricular function and cardiopulmonary exercise testing*

Eur J Heart Failure, 2: 175-181

**Gheorghiade M, Cody RJ, Francis GS, McKenna WJ, Young JB, Bonow RO (1998).** *Current medical therapy for advanced heart failure*

Am Heart J, 132: 231-248

**Gheorghiade M, Hall VB, Jacobsen G, Alam M, Rosman H, Goldstein S (1995).** *Effects of increasing maintenance dose of digoxin on left ventricular function and neurohormones in patients with chronic heart failure treated with diuretics and angiotensin-converting-enzyme inhibitors*

Circulation, 92: 1801-7

**Giannitsis E, Müller-Bardorff M, Katus HA (2001).** *Der akute Herzinfarkt- Neue Definition und diagnostische Strategien*

Der Internist, 42: 641-648

**Gibbons GH, Dzau VJ (1994).** *The emerging concept of vascular remodeling*

N Engl J Med, 330: 1431-1438

**Glembotski CC, Irons CE, Krown KA, Murray SF, Sprenkle AB, Sei CA (1993).** *Myocardial  $\alpha$ -thrombin receptor activation induces hypertrophy and increases atrial natriuretic factor gene expression*

J Biol Chem, 268: 20646-52

**Goldsmith SR (1992).** *Baroreflex loading maneuvers do not suppress increased plasma arginine vasopressin levels in patients with congestive heart failure*  
J Am Coll Cardiol, 19: 1180-4

**Gomberg-Maitland M, Baran DA, Fuster V (2001).** *Treatment of congestive heart failure*  
Arch. Intern. Med., 161: 342-352

**Goss GG, Woodside M, Wakabayashi S, et al. (1994).** *ATP dependence of NHE-1, the ubiquitous isoform of the  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter: analysis of phosphorylation and subcellular localization*  
J Biol Chem, 269: 8741-8

**Grantham J, Hasdai D, Kopecky S, Holmes D, (1998).** *Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor inhibition during PTCA for acute MI: a retrospective analysis of in hospital and one year outcome*  
J Am Coll Cardiol, 31: 231A

**Gu JW, Anand V, Shek EW, Morre MC, Brady AL, Kelly WC, Adair TH (1998).** *Sodium induces hypertrophy of cultured myocardial myoblasts and vascular smooth muscle cells*  
Hypertension, 31: 1083-1087

**Gunasegaram S, Haworth RS, Hearse DJ, Avkiran M (1999).** *Regulation of sarcolemmal  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger activity by angiotensin II in adult rat ventricular myocytes: opposing actions via  $\text{AT}_1$  vs.  $\text{AT}_2$  receptors*  
Circ Res, 85: 919-930

**Guntheroth WG, Jacky JP, Kawabori I, Stevenson JG, Moreno AH (1982).** *Left ventricular performance in endotoxin shock in dogs*  
Am J Physiol, 242: H172-H176

**The GUSTO Angiographic investigators (1993).** *The effects of tissue plasminogen activator, streptokinase, or both on coronary-artery patency, ventricular function, and survival after acute myocardial infarction*

N Engl J Med, 329: 1615-22

**Haigney M, Lakatta E, Stern M, Silverman H (1994).** *Sodium channel blockade reduces hypoxic sodium loading and sodium-dependent calcium loading*  
Circulation, 90: 391-399

**Hambrecht R, Fiehn E, Weigl C, Gielen S, Hamann C, Kaiser R, Yu J, Niebauer J, Schuler G (1998).** *Regular physical exercise corrects endothelial dysfunction and improves exercise capacity in patients with chronic heart failure*  
Circulation, 98: 2709-2715

**Hara YM, Shigematsu Y, Suzuki M, Kuwuhara T, Hashida H, Ikeda S, Ohtsuka T, Hiasa G, Hiwada K (2000).** *Effect of beta-blocker on left ventricular function and natriuretic peptides in patients with chronic heart failure treated with angiotensin-converting enzyme inhibitor*  
JPN Circ J, 64: 365-369

**Hartmann M, Decking UKM (1999).** *Blocking  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchange by cariporide reduces  $\text{Na}^+$ -overload in ischemia and is cardioprotective*  
J Mol Cell Cardiol, 31: 1985-95

**Hasenfuss G, Mulieri LA, Leavitt JB, Allen PD, Haeberle JR, Alpert NR (1992).** *Alteration of contractile function and excitation-contraction coupling in dilated cardiomyopathy*  
Circ Res, 70: 1225-1232

**Hausmann D, Drexler H (1998).** *Das akute Koronarsyndrom*  
Der Internist, 39: 133-141

**Hefti MA, Harder BA, Eppenberger HM, Schaub MC (1997).** *Growth factors and cardiac hypertrophy: signaling pathways in cardiac myocyte hypertrophy*  
J Mol Cell Cardiol, 29: 2873-2892

**Hendrix M, Mubagwa K, Verdonck F, et al. (1994).** *New Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> exchange inhibitor HOE 694 improves postischemic function and high energy phosphate resynthesis and reduces Ca<sup>2+</sup> overload in isolated perfused rabbit heart*  
Circulation, 90: 123-129

**Hill GE (1998).** *Cardiopulmonary bypass-induced inflammation: is it important?*  
J Cardiothor Vasc Anesth, 12 (Suppl): 21-25

**Ho KKL, Anderson KM, Kannel WB, Grossmann W, Levy D (1993).** *Survival after onset of congestive heart failure in Framingham Heart Study subjects*  
Circulation, 88: 107-115

**Hoppe UC, Erdmann E (1998).** *Leitlinien zur Therapie der chronischen Herzinsuffizienz*  
Dt. Gesellschaft für Kardiologie, 1-14

**Imahashi K, Kusuoka H, Hashimoto K, Yoshiuoka J, Yamagichi H, Nishimura T (1999).** *Intracellular sodium accumulation during ischemia as the substrate for reperfusion injury*  
Circ Res, 84: 1401-1406

**ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival) collaborative group (1988).** *Randomised trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both or neither among 17.187 cases of suspected acute myocardial infarction*  
Lancet, 2: 349-60



**Jackson G, Gibbs CR, Davies MK, Lip GYH (2000).** *Heart failure pathophysiology*  
BMJ, 320: 167-170

**James SK, Lindahl B, Siegbahn A, Stridsberg M, Venge P, Armstrong P, Barnathan ES, Califf R, Topol EJ, Simoons ML, Wallentin L (2003).** *N-terminal pro-brain natriuretic peptide and other risk markers for the separate prediction of mortality and subsequent myocardial infarction in patients with unstable coronary artery disease*  
Circulation, 108: 275-281

**Jandeleit-Dahm K, Hannan KM, Farrelly CA, Allen TJ, Rumble JR, Gilbert RE, Cooper ME, Little PJ (2000).** *Diabetes-induced vascular hypertrophy is accompanied by activation of  $\text{Na}^+\text{-H}^+$  exchange and prevented by  $\text{Na}^+\text{-H}^+$  exchange inhibition*  
Circ Res, 87: 1133-1149

**Jennings RB, Reimer K (1991).** *The cell biology of acute myocardial ischemia*  
Annu Rev Med, 42: 225-246

**Kajstura J, Cigola E, Malhotra A, Li P, Cheng W, Meggs LG, Anversa P (1997).** *Angiotensin II induces apoptosis of adult ventricular myocytes in vitro*  
J Mol Cell Cardiol, 29: 859-870

**Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T, Fujiyama S, Tsutsumi Y, Ozono R, Masaki H, Mori Y, Iba O, Tateishi E, Kosaki A, Shintani S, Murohara T, Imaizumi T, Iwasaka T (2001).** *Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic myocardium enhances collateral perfusion and regional function via side supply of angioblasts, angiogenic ligands and cytokines*  
Circulation, 104: 1046-52

**Kaplan SH, Yang H, Gilliam D, Shen J, Lemaster JJ, Cascio WE (1995).** *Hypercapnic acidosis and dimethyl amiloride reduce reperfusion induced cell death in ischemic ventricular myocardium*

Cardiovasc Res, 29: 231-238

**Karmazyn M (1988).** *Amiloride enhances postischemic ventricular recovery: possible role of  $\text{Na}^+\text{-H}^+$  exchange*

Am J Physiol, 255: H608-H615

**Karmazyn M (2001).** *Therapeutic potential of  $\text{Na}^+\text{-H}^+$  exchange inhibitors for the treatment of heart failure*

Exp Opin Invest Drugs, 10 (5): 835-843

**Karmazyn M, Sostaric JV, Gan XT (2001).** *The myocardial  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger*

Drugs, 61 (3): 375-389

**Karmazyn M, Gan XT, Humphreys RA, Yoshida H, Kusumoto K (1999).** *The myocardial  $\text{Na}^+\text{-H}^+$  exchange: Structure, regulation, and its role in heart disease*

Circ Res, 85: 777-786

**Keeley E, et al. (2003).** *Primary angioplasty versus intravenous thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: a quantitative review of 23 randomised trials*

Lancet, 361: 13-20

**Khandoudi N, Ho J, Karmazyn M (1994).** *Role of sodium/hydrogen exchange in mediating the effects of endothelin-1 on the normal and ischemic and reperfused heart*

Circ Res, 75: 369-78

**Kindermann M, Janzen I, Henne B, Böhm M (2002).** *Chronic heart failure-diagnosis*

Dtsch Med Wochenschr, 127: 1083-1088

**Klein HH, Pich S, Bohle RM, Wollenweber J, Nebendahl K (1995).** *Myocardial protection by  $\text{Na}^+$ - $\text{H}^+$  exchange inhibition in ischemic, reperfused porcine hearts*

Circulation, 92: 912-917

**Klein HH, Bohle RM, Pich S, Lindert-Heimberg S, Wollenweber J, Nebendahl K (1997).** *Time delay of cell death by  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchange inhibition in regionally ischemic, reperfused porcine hearts*

J Cardiovasc Pharmacol, 30: 235-240

**Klein HH, Pich S, Bohle RM, Lindert-Heimberg S, Nebendahl K (2000).**  *$\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchange inhibitor cariporide attenuates cell injury predominantly during ischemia and not at onset of reperfusion in porcine hearts with low residual blood flow*

Circulation, 102: 1977-1982

**Kleyman T, Cragoe EJ (1988).** *Amiloride and its analogs as tools in the study of ion transport*

J Membr Biol, 105: 1-21

**Komuro I, Katoh Y, Kaida T, et al. (1991).** *Mechanical loading stimulates cell hypertrophy and specific gene expression in cultured rat cardiac myocytes*

J Biol Chem, 266: 1265-8

**Kusumoto K, Haist JV, Karmazyn M (2001).** *Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange inhibition reduces hypertrophy and heart failure after myocardial infarction in rats*  
Am J Physiol Heart Circ Physiol, 280: H738-H745

**Lazdunski M, Frelin C, Vigne P (1985).** *The sodium/hydrogen exchange system in cardiac cells: its biochemical and pharmacological properties and its role in regulating internal concentrations of sodium and internal pH*  
Mol Cell Cardiol, 17: 1029-1042

**Lindahl B, Toss H, Siegbahn A, et al. (2000).** *Markers of myocardial damage and inflammation in relation to long-term mortality in unstable coronary artery disease*  
N Engl J Med, 343: 1139-47

**Linz W, Wiemer G, Schölkens BA (1997).** *Beneficial effects of bradykinin on myocardial energy metabolism and infarct size*  
Am J Cardiol, 80: 118A-123A

**Linz W, Albus U, Crause P, Jung W, Weichert A, Schoelkens BA, et al. (1998).** *Dose-dependent reduction of myocardial infarct mass in rabbits by the NHE1-inhibitor cariporide*  
Clin Exp Hypertens, 20: 733-749

**Liu H, Cala PM, Anderson SE (1997).** *Ethylisopropylamiloride diminishes changes in intracellular Na, Ca and pH in ischemic newborn myocardium*  
J Mol Cell Cardiol, 29: 2077-2086

**Löwel H, Engel S, Hörmann A, et al. (1999).** *Akuter Herzinfarkt und plötzlicher Herztod aus epidemiologischer Sicht*  
Sicht. Intensivmedizin, 36: 652-661

**Magri P, Rao MAE, Cangianiello S, Bellizzi MD, Russo R, Mele AF, et al. (1998).** *Early impairment of renal hemodynamic reserve in patients with asymptomatic heart failure is restored by angiotensin II antagonism*  
Circulation, 98: 2849-2854

**Mair J et al. (2001).** *The impact of cardial natriuretic peptide determination on the diagnosis and management of heart failure*  
Clin Chem Lab Med, 39: 571

**Mannebach H, Horstkotte D (2000).** *Therapy of acute myocardial infarction: interventional options*  
Intensivmed, 37: 226-238

**Marban E, Koretsune Y (1990).** *Cell calcium, oncogenes, and hypertrophy*  
Hypertension, 15: 652-658

**Martens F (2001).** *Akuter Myokardinfarkt: Lyse schon im Notarztswagen?*  
Der Internist, 42: 682-685

**Martin PY, Schrier RW (1997).** *Sodium and water retention in heart failure: pathogenesis and treatment*  
Kidney Int Suppl, 59: 57-61

**Mandinov L, Matter C, Kaufmann P, Hess OM (1997).** *Diuretika in der Behandlung der Herzinsuffizienz: neue pathophysiologische Aspekte*  
Praxis, 86, Heft 14

**Matsui H, Barry WH, Livsey C, et al. (1995).** *Angiotensin II stimulates sodium-hydrogen exchange in adult rabbit ventricular myocytes*  
Cardiovasc Res, 29: 215-21

**Mentzer RM, Lasley RD, Jessel A, Karmazyn M (2003).** *Intracellular sodium hydrogen exchange inhibition and clinical myocardial protection*  
Ann Thorac Surg, 75: 700-8

**Meyers ML, Mathur S, Li GH, Karmazyn M (1995).** *Sodium-hydrogen exchange inhibitors improve postischemic recovery of function in the perfused rabbit heart*  
Cardiovasc Res, 29: 209-214

**Meyers ML, Karmazyn M (1996).** *Improved cardiac function after prolonged hypothermic ischemia with the  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -exchange inhibitor HOE 694*  
Ann Thorac Surg, 61: 1400-1406

**Mills RM, Lejemtel TH, Horton DP, et al. (1999).** *Sustained hemodynamic effects of an infusion of nesiritide (human b-type natriuretic peptide) in heart failure*  
J Am Coll Cardiol, 34: 155-162

**Miura T, Ogawa T, Suzuki K, Goto M, Shimamoto K (1997).** *Infarct size limitation by a new  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchange inhibitor, Hoe 642: difference from preconditioning in the role of protein kinase C*  
J Am Coll Cardiol, 29: 693-701

**Mulder P, Devaux B, Richard V, Henry JP, Wimart CC, Thibout E, Mace B, Thuillez C (1997).** *Early versus delayed angiotensin-converting enzyme inhibition in experimental chronic heart failure*  
Circulation, 95: 1314-1319

**Murphy E, Cross HR, Steenbergen C (1998).** *Sodium regulation during ischemia versus reperfusion and its role in injury*  
Circ Res, 84: 1469-1470

**Mutschler E, Geisslinger G, Kroemer HK, Schäfer-Korting M (1997).**

*Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*

8. Aufl. WVG, Stuttgart

**Ogino K, Kato M, Noguchi N, Kitamura H, Osaki S, Omodani H, Matsumoto T, Kinugawa T, Miyakoda H, Kotake H, Mashiba H (1997).**

*Effects of enalapril on the exercise capacity and neurohumoral factors during exercise in patients with chronic heart failure*

Cardiology, 88: 6-13

**Ol'binskaia LI, Golubev SA, Bol'shakova TD, Anastas'ina GV, Buniatian AF, Nosova AA (1995).**

*The antihypertensive activity of benazepril in the long-term treatment of hypertension patients and its effect on adrenal cortical function*

Ter Arkh, 67 (9): 56-8

**Oliver PM, Fox JE, Kim R (1997).** *Hypertension, cardiac hypertrophy, and sudden death in mice lacking natriuretic peptide receptor*

Am Proc Natl Acad Sci, 94: 14730-14735

**Osterziel KJ, Dietz R (2000).** *Aktueller Stand der Therapie der chronischen Herzinsuffizienz*

Der Internist, 41: 137-144

**Pacher R, Bergler-Klein J, Globits S, et al. (1993).** *Plasma big endothelin-1 concentrations in congestive heart failure patients with or without systemic hypertension*

Am J Cardiol, 71: 1293-9

**Packer M, Coats AJ, Fowler MB, et al. (2001).** *Effect of carvedilol on survival in severe chronic heart failure*

N Engl J Med, 344: 1651-1658

**Packer M (1988).** *Survival in patients with chronic heart failure and its potential modification by drug therapy*

Cohn JN., Drug Treatment of Heart Failure, 2<sup>nd</sup> ed. ATC International 273

**Parker TG, Schneider MD (1991).** *Growth factors, proto-oncogenes, and plasticity of the cardiac phenotype*

Ann Rev Physiol, 53: 179-200

**Parker TG, Packer SE, Schneider MD (1990).** *Peptide growth factors can provoke „fetal“ contractile protein gene expression in rat cardiac myocytes*

J Clin Invest, 85: 507-14

**Pennock GD, Yun DD, Agarwal PG, Spooner PH, Goldman S (1997).** *Echocardiographic changes after myocardial infarction in a model of left ventricular diastolic dysfunction*

Am J Physiol, 273: H2018-H2019

**Petrecca K, Atanasiu R, Grinstein S, Orlowski J, Shrier A (1999).** *Subcellular localization of the Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger NHE1 in rat myocardium*

Am J Physiol, 276: H709-H717

**Pfeffer MA, Pfeffer JM, Braunwald E (1985).** *Influence of chronic captopril therapy on the infarcted left ventricle in rats*

Circ Res, 57: 84-95

**Pfeffer MA, Braunwald E (1990).** *Ventricular remodeling after myocardial infarction. Experimental observations and clinical implications*

Circulation, 81: 1161-72

**Pfeffer MA, Braunwald E, Moye LA (1992).** *Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction: results of the Survival and Ventricular Enlargement Trial*

N Engl J Med, 327: 669-677



**Pike MM, Luo CS, Clark MD, Kirk KA, Kitakaz M, Madden MC, Cragoe EJ, Pohost GM (1993).** *NMR measurements of Na<sup>+</sup> and cellular energy in ischemic rat heart: role of Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> exchange*

Am J Physiol, 265: H2017-H2026

**Portman MA, Panos AL, Xiao Y, et al. (2001).** *HOE-642 (cariporide) alters pHi and diastolic function after ischemia during reperfusion in pig hearts in situ*

Am J Physiol Heart Circ Physiol, 280: H830-4

**Radomski MW, Salas E (1995).** *Nitric-oxide biological mediator, modulator and factor of injury: Its role in the pathogenesis of atherosclerosis*

Atherosclerosis, 118 (suppl): S69-S80

**Radomski MW, Palmer RM, Moncada S (1987).** *Comparative pharmacology of endothelium-derived relaxing factor, nitric oxide and prostacyclin in platelets*

Br J Pharmacol, 92: 181-187

**Reimer KA, LOW JE, Rasmussen MM, et al. (1977).** *The wavefront of ischemic cell death. 1. Myocardial infarct size vs. duration of coronary occlusion in dogs*

Circulation, 56: 786-794

**Remme WJ, Swedberg K. (2001).** *Guidelines for the treatment of chronic heart failure*

Eur Heart J, 22: 1527-1560

**Rickenbacher P (2001).** *Heart failure: Diagnostics*

Swiss Medical Forum, 1/2: 10-14

**Rodriguez A, Bernardi V, Fernandez M, Mauvecin C, Ayala F, Santaera O, Palacios I, Ambrose J (1998).** *In-hospital and late results of coronary stents versus conventional balloon angioplasty in acute myocardial infarction (GRAMI trial)*

Am J Cardiol, 81: 1286-1291

**Rosenberg RD, Aird WC (1999).** *Vascular-bed specific hemostasis and hypercoagulable states*

N Engl J Med, 340: 1555-1564

**Roskamm H, Reindell H (1996).** *Herzkrankheiten*

4. Aufl. Springer-Verlag, Berlin

**Ross R (1999).** *Atherosclerosis - an inflammatory disease*

N Engl J Med, 340: 115-126

**Rupprecht HJ, vom Dahl J, Terres W, et al. (2000).** *Cardioprotective effects of the  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchange inhibitor cariporide in patients with acute anterior myocardial infarction undergoing direct PTCA*

Circulation, 101: 2902-8

**Rupprecht HJ, Blankenberg S, Espinola-Klein C, Meyer J (2002).** *Modern therapy in acute coronary syndrome*

Med Klin, 97: 236-43

**Ryan TJ, Antman EM, Brooks NH, et al. (1999).** *ACC/AHA Guidelines for the management of patients with acute myocardial infarction*

J Am Coll Cardiol, 3: 890-911

**Sadoshima J, Jahn L, Takahashi T, Kulik TJ, Izumo S (1992).** *Molecular characterization of the stretch-induced adaption of cultured cardiac cells.*

J Biol Chem, 267: 10551-60

**Sadoshima J, Izumo S (1993).** *Molecular characterization of angiotensin II-induced hypertrophy of cardiac myocytes and hyperplasia of cardiac fibroblasts. Critical role of the AT1 receptor subtype*

Circ Res, 73: 413-423

**Saito Y, Nakao K, Arai H, Nishimura K, Okumura K, Obata K, et al. (1989).** *Augmented expression of atrial natriuretic polypeptide gene in ventricle of human failing heart*

J Clin Invest, 83: 298-305

**Sardet C, Franchi A, Pouyssegur J (1989).** *Molecular cloning, primary structure, and expression of the human growth factor – activatable  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter*

Cell, 56: 271-80

**Schaefer S, Ramasamy R (1997).** *Short-term inhibition of the  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger limits acidosis and reduces ischemic injury in the rat heart*

Cardiovasc Res, 34: 329-36

**Scholz W, Albus U, Lang HJ, Linz W, Martorana PA, Englert HC, Schölkens BA (1993).** *HOE 694, a new  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchange inhibitor and its effects in cardiac ischaemia*

Br J Pharmacol, 109: 562-568

**Scholz W, Albus U, Counillon L, et al. (1995).** *Protective effects of HOE 642, a selective sodium hydrogen exchange subtype 1 inhibitor, on cardiac ischaemia and reperfusion*

Cardiovasc Res, 29: 260-268

**Scholz W, Jessel A, Albus U (1999).** *Development of the  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchange inhibitor cariporide as a cardioprotective drug: from the laboratory to the GUARDIAN Trial*

J Thrombosis and Thrombolysis, 8: 61-70

**Schrier RW, Abraham WT (1999).** *Hormones and hemodynamics in heart failure*

N Engl J Med, 341: 577-585

**Schrier RW, Fassett RG, Ohara M, Martin PY (1998).** *Pathophysiology of renal fluid retention*

Kidney Int Suppl, 67: 127-32

**Sharma R, Coats AJS, Anker S (2000).** *The role of inflammatory mediators in chronic heart failure: cytokines, nitric oxide and endothelin-1*

Intern J Cardiol, 72: 175-186

**Shimada Y, Hearse DJ, Avkiran M (1996).** *Impact of extracellular buffer composition on cardioprotective efficacy of  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger inhibitors*

Am J Physiol, 270: H692-H700

**Siffert W, Akkerman JWN (1989).**  *$\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchange and  $\text{Ca}^{2+}$  influx*

FEBS Lett, 259: 1-4

**Silvestre JS, Robert V, Heymes C, et al. (1998).** *Myocardial production of aldosterone and corticosterone in the rat*

J Biol Chem, 273: 4883-4891

**Silvestre JS, Heymes C, Oubenaissa A, et al. (1999).** *Activation of cardiac aldosterone in rat myocardial infarction. Effects of angiotensin II receptor blockade and role in cardiac fibrosis.*

Circulation, 99: 2694-2701

**Sleight, P (2002).** *Angiotensin II and trials of cardiovascular outcomes*

Am J Cardiol, 89: 11A-17A

**Solis RT, Downing SE (1966).** *Effects of E.coli endotoxemia on ventricular performance*

Am J Physiol, 211: 307-313

**SOLVD Investigators (1991).** *Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fractions and congestive heart failure*

N Engl J Med, 325: 293-302

**SOLVD Investigators (1992).** *Effect of enalapril on mortality and the development of heart failure in asymptomatic patients with reduced left ventricular ejection fractions*

N Engl J Med, 327: 685-691

**Stary HC (1989).** *Evolution and progression of atherosclerotic lesion in coronary arteries of children and young adults*

Atherosclerosis, 9 (Suppl. 1): 19-32

**Staudt A, Lesberger M, Staudt Y, Felix SB (2002).** *Die Rolle der Zytokine bei der Herzinsuffizienz*

Herz, 27: 691-698

**Stewart S, et al. (2001).** *More “malignant” than cancer? Five-year survival following a first admission for heart failure*

Eur J Heart Fail, 3: 315-322

**Stone G, Brodie B, Griffin J, Morice M, Costantini C, Goar FS, Overlie P, O'Neill W, Grines C (1998).** *Prospective, multicenter study of the safety and feasibility of primary stenting in acute myocardial infarction: in-hospital and 30-day results of the PAMI Stent pilot trial*

J Am Coll Cardiol, 31: 23-30

**Strauer BE (2001).** *Akuter Myokardinfarkt*

Der Internist, 42: 629-630

**Studer R, Reinecke H, Muller B, Holtz J, Just H, Drexler H (1994).**

*Increased angiotensin-I converting enzyme gene expression in the failing human heart. Quantification by competitive RNA polymerase chain reaction*

J Clin Invest, 94: 301-310

**Suryapranata H, van`T Hof A, Hoorntje J, deBoer M, Zijlstra F (1998).**

*Randomized comparison of coronary stenting with balloon angioplasty in selected patients with acute myocardial infarction*

Circulation, 97: 2502-2505

**Szabo C, Thiemermann C (1995).** *Regulation of the expression of the inducible isoform of nitric oxide synthase*

Adv Pharmacol, 34: 113-153

**Takewaki S, Kuro M, Hiroi Y, Yamazaki T, Noguchi T, Miyagishi A, Nakahara K, et al. (1995).** *Activation of Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> antiporter (NHE-1) gene expression during growth, hypertrophy and proliferation of the rabbit cardiovascular system*

J Mol Cell Cardiol, 27: 729-42

**Theroux P, Chaitman BR, Danchin N, Erhardt L, Meinertz T, et al. (2000).** *Inhibition of the sodium-hydrogen exchanger with cariporide to prevent myocardial infarction in high-risk ischemic situations*

Circulation, 102: 3032-3038

**Thomson SP, Gibbons RJ, Smars PA, Suman VJ, Pierre RV, Santrach PJ, et al. (1995).** *Incremental value of the leukocyte differential and the rapid creatine kinase-MB isoenzyme for the early diagnosis of myocardial infarction*

Ann Intern Med, 122: 335-41

**Trochu JN, Bouhour JB, Kaley G, Hintze TH (2000).** *Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of cardiac oxygen metabolism: implications in health and disease*

Circ Res, 87: 1108-1117

**Van Emous JG, Schreur JH, Ruigrok TJ, Van Echteld CJ (1998).** *Both  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  ATPase and  $\text{Na}^+\text{-H}^+$  exchanger are immediately active upon post-ischemic reperfusion in isolated rat hearts*

J Mol Cell Cardiol, 30: 337-348

**Vaughan-Jones RD, Wu ML (1990).** *Extracellular  $\text{H}^+$  inactivation of  $\text{Na}^+\text{-H}^+$  exchange in the sheep Purkinje fibre*

J Physiol (Lond), 428: 441-446

**Vinten-Johansen J, Thourani V (2000).** *Myocardial protection: an overview*

J Extra Corpor Technol, 32: 38-48

**Volpe M, Tritto C, De Luca N, Mele AF, Lembo G, Rubattu S, et al. (1991).** *Failure of atrial natriuretic factor to increase with saline load in patients with dilated cardiomyopathy and mild heart failure*

J Clin Invest, 88: 1481-1489

**Volpe M, Tritto C, Condorelli M (1993).** *Hormonal profile in mild heart failure*

Acta Cardiologica, 5: 483-494

**Wakabayashi S, Fafournoux P, Sardet C, et al. (1992).** *The  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter cytoplasmic domain mediates growth factor signals and controls  $\text{H}^+$  sensing*

Proc Natl Acad Sci USA, 89: 2424-8

**Wallert MA, Fröhlich O (1992).**  *$\alpha_1$ -adrenergic stimulation of Na-H exchange in cardiac myocytes*

Am J Physiol, 263: C1096-C1102

**Walter S, Carlsson J, Schroder R, Neuhaus KL, Sorges E, Tebbe U (1999).** *Enzymatic markers of reperfusion in acute myocardial infarction*

Herz, 24 (6): 430-9

**Weber W, Harnisch L, Jessel A (2002).** *Lessons learned from a phase III population pharmacokinetic study of cariporide in coronary artery bypass graft surgery*

Clin Pharmacol&Therapeut, 71: Nr.6

**Wei CM, Lerman A, Rodeheffer RJ, et al. (1994).** *Endothelin in human congestive heart failure*

Circulation, 89: 1580-6

**Wollert KC, Studer R, Just H, Drexler H (1994).** *Influence of lisinopril on long-term mortality in rats with chronic myocardial infarction: role of blood pressure reduction and tissue ACE inhibition*

Circulation, 90: 2457-2467

**Wollert KC, Studer R, Doerfer K, Schieffer E, Holubarsch C, Just H, Drexler H (1997).** *Differential effects of kinins on cardiomyocyte hypertrophy and interstitial collagen matrix in the surviving myocardium after myocardial infarction in the rat*

Circulation, 95: 1919-1917

**Yasutake M, Haworth RS, King A, et al. (1996).** *Thrombin activates the sarcolemmal  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger: evidence for a receptor-mediated mechanism involving protein kinase C*

Circ Res, 79: 705-15



**Yokoyama H, Yasutake M, Avkiram M (1998).**  *$\alpha_1$ -adrenergic stimulation of sarcolemmal  $\text{Na}^+$ - $\text{H}^+$  exchanger activity in rat ventricular myocytes: evidence for selective mediation by the  $\alpha_{1A}$ -adrenoceptor subtype*

Circ Res, 82: 1078-1085

**Yoshida H, Karmazyn M (2000).**  *$\text{Na}^+$ - $\text{H}^+$  exchange inhibition attenuates hypertrophy and heart failure in 1-wk postinfarction rat myocardium*

Am J Physiol Heart Circ Physiol, 27: H200-H304

**Zelis R, Flaim SF (1982).** *Alterations in vasomotor tone in congestive heart failure*

Prog Cardiovasc Dis, 24: 437-459

**Zeymer U, Suryapranata H, Monassier JP, Opolski G, et al. (2001).** *The  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchange inhibitor eniporide as an adjunct to early reperfusion therapy for acute myocardial infarction*

J Am Coll Cardiol, 38: 1644-50i

## 9. Danksagung

Mein herzlichster Dank gilt Herrn PD Dr. Wolfgang Linz (Aventis Pharma Deutschland GmbH) für die Überlassung des Themas und Herrn Dr. Hartmut Rütten (Aventis Pharma Deutschland GmbH) für die Anregungen zur Methodik sowie die umfassende und stets freundliche Betreuung bei der Versuchsdurchführung und Anfertigung dieser Dissertationsschrift.

Des weiteren sei allen herzlichst gedankt, die zum Gelingen dieser Doktorarbeit beigetragen haben:

Herrn Prof. Dr. Martin Diener (Institut für Veterinär-Physiologie der Justus-Liebig-Universität Giessen) für die freundliche Betreuung und für die Begutachtung dieser Dissertation.

Herrn Prof. Dr. Andreas Busch (Leiter der Indikationsgruppe Herz-Kreislauf-Erkrankungen) für die Überlassung des Themas und die Ermöglichung dieser Arbeit in den ausgezeichneten Einrichtungen der Firma Aventis Pharma Deutschland GmbH.

Allen Mitarbeitern des Labors von Herrn Dr. Rütten, insbesondere Doris Gehring, Roswitha Watzlawik, Thomas Heibel, Katrin Rungwerth und Karen Menning für die Hilfe bei der Durchführung der Versuche und die stets angenehme Arbeitsatmosphäre.

Herrn Dr. Martin Gerl und Frau Dr. Gabriele Biemer-Daub (beide Aventis Pharma Deutschland GmbH) und deren Mitarbeitern für die Durchführung der Blutanalysen.

Danken möchte ich von Herzen auch meinen Eltern, die mich während meiner gesamten Ausbildung stets unterstützt haben und mir in jeder Hinsicht fürsorglich zur Seite standen.

Nicht zuletzt möchte ich auch meinem Mann Francis Bellen herzlichst danken, der mich ebenso zu jeder Zeit liebevoll unterstützt hat.